

Научно-практический журнал
«Ветеринарная медицина» №1 2010 г.

Учредитель и издатель: ООО «Агровет»
(свидетельство о регистрации ПИ 77-9543 от 30 июля 2001 г.)

Главный редактор

Тихонов Игорь Владимирович –
доктор биол. наук, профессор.

Редакторы: Ю.Д. Девришова
И.В. Дрель

Редакционный совет:

Председатель редакционного совета
Воронин Евгений Сергеевич –
заслуженный деятель науки РФ, академик
РАСХН, доктор биол. наук, профессор.

Члены:

Василевич Федор Иванович –
заслуженный работник высшей школы РФ,
академик РАСХН, доктор вет. наук,
профессор, член экспертной комиссии ВАК РФ;

Владимиров Леонид Николаевич –
доктор биол. наук, профессор;

Волков Михаил Юрьевич –
доктор биол. наук, профессор;

Гаврилов Владимир Андреевич –
заслуженный деятель науки РФ,
доктор вет. наук, профессор;

Дорожкин Василий Иванович –
доктор вет. наук, профессор;

Кочиш Иван Иванович – член-корреспондент
РАСХН, доктор с.-х. наук, профессор;

Литвинов Олег Борисович – доктор
вет. наук, профессор;

Мирзаев Михаил Нурбагандович –
доктор биол. наук, профессор;

Непоклонов Анатолий Александрович –
заслуженный деятель науки РФ,
Лауреат премии Совета Министров СССР,
доктор вет. наук, профессор;

Панин Александр Николаевич – академик
РАСХН, доктор вет. наук, профессор;

Стяжкин Константин Кириллович – канд.
техн. наук, старший научн. сотрудник;

Уша Борис Вениаминович – академик
РАСХН, доктор вет. наук, профессор.

Компьютерная верстка,

дизайн

А.Н. Птуха

Корректурa

В.А. Мальцева

Адрес редакции:

109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23
ООО «Агровет»

Тел. редакции: 376-70-01

Факс: 377-69-97, 377-69-87

E-mail: vetmed@agrovvet.ru,

tixonov_iv@mail.ru, drel_irina@mail.ru

Рукописи не возвращаются и не редактируются.

Подписано в печать 30.03.2010 г.

Формат 60×90 1/8, печать офсетная.

Заказ №92, тираж 3000 экз.

© «Ветеринарная медицина», 2010 г.

СОДЕРЖАНИЕ

БИОТЕХНОЛОГИЯ

<i>И.В. Дрель, М.Ю. Волков</i> ПРИНЦИПЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ С АДСОРБЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНО-ХИМИЧЕСКОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ	4
<i>И.В. Дрель, Т.В. Заболоцкая, М.Ю. Волков, И.В. Тихонов</i> КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕЦЕПТУРЫ БИОПРЕПАРАТА «БАКСИН-ВЕТ» НА ОСНОВЕ ГЛАУКОНИТА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНО-ХИМИЧЕСКОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ.....	6
<i>И.В. Дрель</i> ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРОКА ГОДНОСТИ И УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «БАКСИН-ВЕТ» (БНД).....	8

БИОХИМИЯ

<i>В.Н. Белов, С.Ю. Зайцев</i> ФОТОАКТИВИРУЕМЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ КРАСИТЕЛИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ.....	10
<i>И.В. Кис</i> ВЛИЯНИЕ КОЛЛАГЕНА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ IN VITRO АНТИМИКРОБНЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ АНТИСЕПТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА КОЛМЕДОКС ...	14
ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА	
<i>М.Ф. Боровков, А.В. Калашникова, В.М. Бачинская</i> АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ТУШЕК БРОЙЛЕРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЛИТИЯ КАРБОНАТА	18
<i>А.В. Кулырова, И.В. Тихонов</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НА КАЧЕСТВО МЯСА ОВЕЦ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ДОСО»	20

КОРМОПРОИЗВОДСТВО

<i>В.Г. Хапугин, Г.В. Комоско, С.М. Кузнецов</i> ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ ЖИВОТНОВОДСТВА В РЕЗУЛЬТАТЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЗАКВАСОК ДЛЯ СИЛОСОВАНИЯ	22
--	----

МИКРОБИОЛОГИЯ

<i>Г.Н. Кузьмин, А.М. Скогорева, О.В. Попова</i> ВЛИЯНИЕ МИРАМИСТИНА НА РАЗВИТИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ E. COLI O141, S. CHOLERAЕ SUIС И ST. AUREUS К АНТИБИОТИКАМ	24
--	----

ОНКОЛОГИЯ

<i>М.Н. Якунина, Е.М. Трещалина, А.А. Шимширт</i> ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПЕРЕНОСИМОСТЬ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ (АДЪЮВАНТНОЙ) ХИМИОТЕРАПИИ ДОКСОРУБИЦИНОМ ИЛИ ТАКСОТЕРОМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КОШЕК	26
--	----

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

<i>Э. Делта</i> ИЗМЕНЕНИЯ КАРТИНЫ ГЛАЗНОГО ДНА ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ АТРОФИИ СЕТЧАТКИ.....	30
<i>Э. Делта</i> РОЛЬ ЭЛЕКТРОРЕТИНОГРАФИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ АТРОФИИ СЕТЧАТКИ У СОБАК.....	32
<i>А.В. Федорченко-Цуканова, Л.Ф. Сотникова</i> ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ГРИБКОВОГО ЯЗВЕННОГО КЕРАТИТА У ЛОШАДЕЙ.....	35

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

<i>Т.Ш. Кузнецова</i> ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У СОБАК, БОЛЬНЫХ ПИОМЕТРОЙ	38
--	----

РАДИОБИОЛОГИЯ

<i>А.В. Поздеев</i> ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ИЗ МОЛОК ЛОСОСЁВЫХ РЫБ ПРИ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ....	40
<i>А.В. Поздеев, В.К. Промоненков, Н.П. Лысенко</i> ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПИГМЕНТА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРА ЭЛЕКТРОННО-ВОЗБУЖДЁННЫХ СОСТОЯНИЙ	42

ФИЗИОЛОГИЯ

<i>В.В. Мосягин</i> ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ АТФаз ЯДЕРНЫХ И ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ	44
<i>П.О. Щеголев, В.Ф. Позднякова, К.В. Петрова</i> БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОРЫ БЕРЕЗЫ ИЗМЕЛЬЧЕННОЙ ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В РАЦИОН ЖИВОТНЫХ	47

ХИРУРГИЯ

<i>Е.Л. Безрук</i> ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНО-ГНИЛОСТНЫХ ФЛЕГМОНОЗНЫХ ПОРАЖЕНИЙ В ОБЛАСТИ ГОЛОВЫ У СОБАК	50
<i>А.В. Кулырова, И.В. Тихонов</i> ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА РАН КОЖИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПОМОЩИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ «ДОСО-ВОДА» И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ВЕТЕРИНАРНО-АПЛИКАЦИОННОГО СРЕДСТВА «ДОСО»... ..	52



ПРИНЦИПЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ С АДСОРБЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНО-ХИМИЧЕСКОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ

Разработка рациональных лекарственных форм биопрепаратов представляет собой создание специальных систем доставки активного компонента с учетом возможных инактивирующих факторов как в процессе приготовления и хранения, так и после приема по строго определенной схеме. Основой разработки готовых биопрепаратов с адсорбционной активностью является поэтапное структурирование лекарственных форм – структурирование активного ингредиента, структурирование носителей, формирование системы доставки, стандартизация лекарственной формы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лекарственная форма, адсорбент, капиллярно-химическое обезвоживание.

I.V. DREL, M.Yu. VOLKOV

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

PRINCIPLES OF DESIGNING OF BIOLOGICAL PRODUCTS WITH ADSORPTION ACTIVITY A METHOD OF CAPILLARY-CHEMICAL DEHYDRATION

Working out of rational dosage form of biological products represents creation of special systems of delivery of an active component taking into account possible inactivations factors both in the course of preparation and after reception under strictly certain scheme. A basis of working out of ready biological products with adsorption activity is stage-by-stage structurization of dosage forms – structurization of an active component, structurization of carrier, formation of delivery system, standardization of the medicinal form.

KEYWORDS: dosage form, adsorbent, capillary-chemical dehydration.

В арсенале современных лекарственных биопрепаратов сорбирующие средства занимают важное место. Их главная особенность – проявление фармакологической активности после опосредованного взаимодействия с системами организма, с содержимым пищеварительного тракта либо с иммунокомпетентными органами после преодоления физиологических защитных барьеров. В случае адсорбентов фармакологический эффект проявляется после поглощения сорбентом патологических агентов экзо- или эндогенного происхождения из пищеварительного тракта.

При пероральном приеме антигенов, пробиотиков и др. преодоление естественных барьеров организма сопровождается потерей 90-95% исходной активности готовых лекарственных форм. Однако в случае успешной доставки в иммунокомпетентный орган даже малой доли исходной дозы препарата происходит полноценное развитие фармакологического эффекта (иммуногенез, приживление или лизис патогенных штаммов бактерий).

Другая особенность – частичная или полная инактивация фармакологически активного ингредиента в процессе приготовления лекарственной формы под влиянием ряда факторов – нагревания или контакта со вспомогательными веществами и растворителями, механических воздействий (грануляция, прессование),

обезвоживания (в зависимости от типа сушки), создания защитных покрытий (при микрокапсулировании и нанесении оболочек) и т.д. По этой причине среди биопрепаратов мало готовых дозированных препаратов для перорального применения (таблетки, капсулы), а преобладают многодозовые расфасовки (порошки, лиофилизаты) и жидкие формы в объемной таре (флаконы, бутылки), не позволяющие рационально использовать весь потенциал отдельной упаковки.

Разработка рациональных лекарственных форм биопрепаратов представляет собой создание специальных систем доставки активного компонента с учетом возможных инактивирующих факторов как в процессе приготовления и хранения, так и после приема по строго определенной схеме.

Основой разработки готовых биопрепаратов с адсорбционной активностью является поэтапное структурирование лекарственных форм – структурирование активного ингредиента, структурирование носителей, формирование системы доставки, стандартизация лекарственной формы.

На всех этапах критерием целесообразности и рациональности любых операций должен служить контроль за сохранением соответствующей специфической активности (содержания активных ингредиентов и адсорбционной). Для этого анализируются инактивирующие



факторы (температурные режимы обработки – сушки или стерилизации), давления прессования и потенциальные стабилизаторы активности. Для многих лекарственных средств специфическую активность *in vitro* выражают в одних единицах (антигенность, концентрация микробных и вирусных частиц или их фрагментов и т.п.), а активность *in vivo* количественно оценивают в других единицах (иммуногенность, приживляемость, индекс резистентности) на прямых и косвенных моделях инфицирования и т.д. Аналогично функциональную активность адсорбентов *in vitro* определяют чаще всего по величине адсорбционной способности с использованием модельных веществ (маркеров), имитирующих патологический агент.

По степени защиты от внешних воздействий и физиологических барьеров, а также в зависимости от стабильности активного ингредиента при изготовлении, хранении и после приема по наиболее рациональной схеме готового препарата можно выделить несколько типов систем доставки:

- одноуровневые (таблетки без покрытий, гранулы, мази, гели, пасты);
- двухуровневые (желудочно-резистентные гранулы, микрокапсулы и таблетки с оболочками);
- трехуровневые (желудочно-резистентные таблетки с двойной защитой с гелеобразователями, гидрофобизаторами, микрокапсулами, сорбентами).

Одноуровневые лекарственные формы не предусматривают защиту при преодолении физиологических барьеров организма. Их получают общепринятыми способами с учетом стабильности и требуемой микробной чистоты. Большинство лекарственных средств в инактивируется при различных технологических воздействиях (увлажнение, нагревание, сушка, прессование) и не выдерживает стерилизацию.

Гранулы энтеросорбентов в достаточной степени корректируют неудовлетворительные свойства соответствующих порошков (распыляемость, слеживаемость, сложность дозирования и т.д.). При рациональном подборе комбинаций сорбентов, активного компонента и вспомогательных веществ под контролем адсорбционной способности возможно получение композиционных препаратов с повышенной функциональной активностью, например, за счет потенцирования различных механизмов адсорбции компонентов.

Двухуровневые системы доставки предназначены для направленной локализации действия активного ингредиента. Создание защитных структур (в основном кислотоустойчивых оболочек и каркасов) возможно после установления приемлемых технологических приемов и режимов для сохранения активности препарата. Наиболее простой вариант защиты антигенов в желудке – фасовка в сплошные оболочки (капсулы) из кишечнорастворимых полимеров (желатин).

Принципиально важны факты стабилизации активного компонента различными вспомогательными веществами (адсорбентами) на этапе структурирования активного начала. Для биопрепаратов – это адсорбенты и ионообменники, а также аэросил. При этом специфическая активность препаратов сохраняется значительно дольше.

Для получения лекарственных форм с двойной защитой пригодно таблетирование или капсулирование препаратов, предварительно иммобилизованных на адсорбентах и ионообменниках.

Ферменты, лизоцимы, бактериоцины, витамины, аминокислоты и другие активные компоненты биопрепаратов являются лабильными ингредиентами и подвержены быстрой инактивации при воздействии различных факторов среды. Для сохранения их свойств широко применяется иммобилизация.

В частности, иммобилизованные ферменты – это искусственно связанные с нерастворимым носителем энзимы без изменения своих каталитических свойств. Иммобилизация заключается в полном или частичном ограничении свободы движения белковых молекул. Иммобилизованные ферменты могут использоваться многократно, долговечны и в тысячи раз стабильнее свободных энзимов.

В качестве носителей для иммобилизации ферментов применяют органические полимеры (целлюлоза, декстран, хитин, фиброин, желатин), синтетические полимеры (на основе стирола, акриловой кислоты), неорганической природы (стекло, цеолиты, глауконит, глина, керамика, силикагель), а также микроорганизмы. Методы иммобилизации реализуются: посредством адсорбции энзима на нерастворимом носителе, путем включения ферментов в поры геля, пористой структуры, за счет образования химических (ковалентных) связей с носителем.

Учитывая изложенное, в качестве адсорбента активных ингредиентов биопрепарата (например, каротиноиды, белки, пептиды, витамины, биофлавоноиды, нуклеиновые кислоты, незаменимые аминокислоты, минеральные компоненты, липиды) в состав рекомендуется включать адсорбент-носитель (цеолиты, глауконит, силикагель) и в качестве вещества, улучшающего сыпучие свойства порошка, – аэросил для создания препарата в порошковой и гранулированной форме, с последующей возможностью таблетирования и капсулирования.

При конструировании препарата из трех синергичных компонентов необходимо подобрать их оптимальное соотношение. Для оценки различных комбинаций ингредиентов в препарате в качестве критерия рекомендуется использовать оптимальное содержание белка для последующего приготовления кормов, содержание адсорбента-носителя в конечном продукте – биопрепарате или кормовой добавке и технологические свойства, обеспечивающие сыпучесть, низкую гигроскопичность и увеличенный срок годности при естественных условиях хранения и применения препарата.

Контактная информация:

Дрель Ирина Викторовна, drel_irina@mail.ru



ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина»

КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕЦЕПТУРЫ БИОПРЕПАРАТА «БАКСИН-ВЕТ» НА ОСНОВЕ ГЛАУКОНИТА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНО-ХИМИЧЕСКОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ

В результате исследований установлено, что рецептура с 10% Баксин-вет является наиболее оптимальной с точки зрения сохранения каротиноидов при приготовлении кормовых добавок.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Баксин-вет, глауконит, капиллярно-химическое обезвоживание.

I.V. DREL, T.V. ZABOLOTSKAYA, M.Yu. VOLKOV, I.V. TIKONOV

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

DESIGNING OF A COMPOUNDING BIOLOGICAL PRODUCT "BAKSIN-VET" ON A BASIS GLAUKONIT A METHOD OF CAPILLARY-CHEMICAL DEHYDRATION

As a result of researches it is established, that the compounding from 10 % Baksin-vet is the optimal preservation of carotinoids for preparation of forages.

KEYWORDS: Baksin-vet, glaukonit, capillary-chemical dehydration.

Применение препаратов, повышающих общую резистентность организма, активизирующих репродуктивную систему животных, стимулирующих синтез иммуноглобулинов, обеспечивающих защиту животных при токсикозах, профилактику желудочно-кишечных болезней, является необходимым для сохранности молодняка.

Для конструирования рецептуры кормовой добавки Баксин-вет на основе глауконита методом капиллярно-химического обезвоживания нами были проведены исследования оптимального содержания компонентов (баксин, глауконит и аэросил).

Баксин-вет представляет собой высушенную бактериальную массу выращенных в водно-минеральной питательной среде, инактивированных клеток *Halobacterium halobium* 353П. Клетки галобактерий способны синтезировать комплекс биологически активных веществ: белки, пептиды, каротиноиды, витамины Е, D, К, группы В, биофлавоноиды, нуклеиновые кислоты, незаменимые аминокислоты, минеральные компоненты, липиды, макроэлементы (К, Na, Са, Р, Fe) и микроэлементы (Zn, Se и др.) и др.

Благодаря строго калиброванному размеру пор (около 4 ангстрем) глауконит способен проявлять сорбционные свойства только по отношению к ионам макро- и микроэлементов и органическим соединениям с небольшими размерами молекул (метан, сероводород, аммиак и др.), не вступая в прямое взаимодействие со сложными органическими соединениями (витаминами, белками и др.).

Использовавшийся в работе глауконит, предварительно просеянный на вибросите с диаметром сетки 1,5 мм, поступал на измельчение в шаровой мельнице до размера частиц 500 мкм, затем проводилась просушка при 180°C в течение 30 минут и прокалывание при 280-300°C в течение 40 минут в сухожаровом шкафу.

Баксин-вет сушили сублимационным способом.

На первом этапе готовили смеси глауконита с аэросилом и исходным Баксин-вет с шагом 10%, полученные смеси анализировали на исходное содержание каротиноидов, влажность, гигроскопичность, а также после непродолжительного нагрева (в течение 10 суток) до 30°C, 50°C и 100°C.

Таблица 1

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Содержание каротиноидов, мг/100 г				Примечание
		Исходное	Нагрев 30°C	Нагрев 50°C	Нагрев 100°C	
1.	Исходный	14,0	11,0	5,6	2,3	Порошок спекается и слеживается
2.	Смесь 20%	2,76	2,4	2,1	1,8	
3.	Смесь 10%	1,38	1,28	1,22	0,8	
4.	Смесь 1%	0,23	0,18	0,16	0,1	

Таблица 2

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Насыпная плотность, г/см ³				Примечание
		Исходная	Нагрев 30°C	Нагрев 50°C	Нагрев 100°C	
1.	Исходный	0,54	0,55	0,52	0,5	Порошок спекается и слеживается
2.	Смесь 20%	0,75	0,8	0,82	0,8	
3.	Смесь 10%	0,86	0,84	0,84	0,83	
4.	Смесь 1%	0,87	0,86	0,84	0,8	



Таблица 3

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Влажность, %				Примечание
		Исходная	Нагрев 30°C	Нагрев 50°C	Нагрев 100°C	
1.	Исходный	9,3	9,4	9,1	9,0	Порошок спекается и слеживается
2.	Смесь 20%	8,5	8,4	8,2	7,5	
3.	Смесь 10%	8,1	8,0	7,8	7,7	
4.	Смесь 1%	8,0	7,9	7,7	7,6	

Таблица 4

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Гигроскопичность, %	Примечание
1.	Исходный	34,6	
2.	Смесь 20%	12,3	
3.	Смесь 10%	10,4	
4.	Смесь 1%	10,2	

Таблица 5

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Угол естественного откоса, °С	Примечание
1.	Исходный	–	Не сыплется
2.	Смесь 20%	75	Ссыпается комком
3.	Смесь 10%	15	
4.	Смесь 1%	15	

Анализ результатов проведенных исследований (табл. 1-5) позволил установить оптимальную концентрацию компонентов: 10% Баксин-вет исходный, 87% глауконит, 3% аэросил. Полученный порошок хорошо сыпался в воронке (низкий угол естественного откоса – показатель сыпучести), что говорит о возможности использования промышленного оборудования для фасовки препарата. Высокая насыпная плотность обеспечивает мелкую дозировку препарата при фасовке. Низкая гигроскопичность позволяет осуществлять технологические процессы во времени и улучшает потребительские свойства препарата.

Высокая термоустойчивость препарата (при нагреве до 100°C) обеспечивает возможность гранулирования препарата (таблетирование).

Следующим этапом исследований была откорректирована рецептура с шагом 0,5. Приготовлены образцы с концентрацией 1%, 5% и 10%.

Проведен полный комплекс исследований физико-химического состояния.

В результате уточняющих исследований установлено, что рецептура с 10% Баксин-вет является наиболее оптимальной с точки зрения сохранения каротиноидов для приготовления кормов и для приготовления самостоятельного премикса при одинаковых технологических параметрах других (5%) рецептур.

Таблица 6

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Содержание каротиноидов, мг/100 г				Примечание
		Исходное	Нагрев 30°C	Нагрев 50°C	Нагрев 100°C	
1.	Исходный	14,0	11,0	5,6	2,3	Порошок спекается и слеживается
2.	Смесь 10%	1,38	1,28	1,22	0,8	
3.	Смесь 5%	0,75	0,72	0,69	0,5	
4.	Смесь 1%	0,23	0,18	0,16	0,1	

Таблица 7

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Насыпная плотность, г/см ³				Примечание
		Исходная	Нагрев 30°C	Нагрев 50°C	Нагрев 100°C	
1.	Исходный	0,54	0,55	0,52	0,5	Порошок спекается и слеживается
2.	Смесь 10%	0,86	0,84	0,84	0,83	
3.	Смесь 5%	0,86	0,83	0,82	0,81	
4.	Смесь 1%	0,87	0,86	0,84	0,8	

Таблица 8

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Влажность, %				Примечание
		Исходная	Нагрев 30°C	Нагрев 50°C	Нагрев 100°C	
1.	Исходный	9,3	9,4	9,1	9,0	Порошок спекается и слеживается
2.	Смесь 10%	8,1	8,0	7,8	7,7	
3.	Смесь 5%	8,1	7,9	7,7	7,5	
4.	Смесь 1%	8,0	7,9	7,7	7,6	

Таблица 9

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Гигроскопичность, %	Примечание
1.	Исходный	34,6	
2.	Смесь 10%	10,4	
3.	Смесь 5%	10,3	
4.	Смесь 1%	10,2	

Таблица 10

Показатели пошагового эксперимента

№ п/п	Композиции Баксин-вет	Угол естественного откоса, °С	Примечание
1.	Исходный	–	Не сыплется
2.	Смесь 10%	15	
3.	Смесь 5%	15	
4.	Смесь 1%	15	

Усовершенствованная белковая кормовая добавка «Баксин-вет 10%», приготовленная по разработанной технологии ТИ 10-001 9553221-2010, может быть использована для приготовления гранулированных полнорационных комбикормов для животных и птиц при температуре не выше 80°C.

Контактная информация:
Дрель Ирина Викторовна, drel_irina@mail.ru



ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРОКА ГОДНОСТИ И УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ БАКСИН-ВЕТ (БКД)

В результате исследований установлено, что гарантированный срок годности препарата Баксин-вет, приготовленного по усовершенствованной методике (БКД) методом капиллярно-химического обезвоживания на глауконите, составляет 2 года при условии хранения в герметичной упаковке, в сухом, чистом, защищённом от света, в вентилируемом помещении при температуре от 20°C до 25°C.

Ключевые слова: Баксин-вет, глауконит, метод «ускоренного старения».

I.V. DREL

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

DEFINITION OF WORKING LIFE AND CONDITIONS OF STORAGE THE FODDER ADDITIVE BAKSIN-VET

As a result of researches it is established, that the guaranteed working life of preparation Baksin-vet prepared by an advanced technique by a method of capillary-chemical dehydration on glauconite makes 2 years under condition of storage in tight packing, in dry, pure, protected from light, in a ventilated premise at temperature from 20°C to 25°C.

KEYWORDS: Baksin-vet, glauconit, method of «accelerated ageing».

Известно, что сроки годности для большинства сухих биопрепаратов составляют от 2 до 5 лет. Для определения гарантированного срока годности белковой кормовой добавки с включением препарата Баксин-вет (БКД), приготовленной по усовершенствованной методике методом капиллярно-химического обезвоживания на глауконите, нами был использован метод "ускоренного старения".

Метод "ускоренного старения" используют для определения сроков годности биопрепаратов, в составе которых могут быть как синтетические ингредиенты, так и компоненты, получаемые из природного сырья (белковые основы, витамины, аминокислоты, агары и т.д.).

Данный метод заключается в выдерживании испытуемого биопрепарата при температурах, превышающих среднюю температуру хранения, для ускорения протекающих в них физико-химических процессов. По результатам, полученным при использовании метода "ускоренного старения", можно установить температуру хранения, обеспечивающую заданный срок годности. Пересчет срока экспериментального хранения (годности) на срок хранения (годности) при стандартных условиях (давление 101,325 кПа, температура 20°C, относительная влажность воздуха 60%) проводят с использованием следующего уравнения:

$$C = K \times C_3 = 2^{\frac{T_3 - 20}{10}} \times C_3, \quad (1)$$

где K – коэффициент соответствия срока экспериментального хранения при повышенной температуре сроку хранения при стандартной температуре, равной 20°C; 2 – принятое значение температурного коэффициента

скорости химических реакций; T_3 – температура экспериментального хранения, °C; C_3 – срок экспериментального хранения; C – срок хранения (годности) при стандартных условиях.

Таблица 1

Значения коэффициентов соответствия K для различных температур экспериментального хранения t при температурном коэффициенте скорости химической реакции, равном 2

T_3	25	30	35	40	45	50
K	1,4	2,0	2,8	4,0	5,7	8,0

Для выполнения исследований в этом направлении была составлена программа в следующей последовательности.

1. Установление предельных значений температуры. Известно, что температура искусственного старения должна превышать стандартную температуру хранения как минимум на 10°C. За стандартную была взята температура воздуха в хранилище 20°C.

Для проведения экспериментальных исследований выбраны следующие температуры (°C): 30, 50 и 80, поскольку информации, полученной в результате проведения экспериментальных исследований, по определению сроков годности белковых препаратов с применением ускоренных методов при трех различных температурах достаточно для получения удовлетворительных и достоверных результатов для дальнейшего прогнозирования.

При этом учитывалось, что максимальная температура эксперимента для БКД не должна превышать 80°C.



2. Определение продолжительности испытаний. Продолжительность испытаний зависит от значения температуры и интенсивности протекания химических процессов как в самом препарате Баксин-вет, так и в БКД. Согласно уравнению Аррениуса, при повышении температуры на 10°C скорость химических реакций в биопрепаратах увеличивается в два раза. Для ряда белковых препаратов предельная продолжительность испытаний устанавливается соответствующим стандартом. Однако в большинстве случаев продолжительность испытания определяется временем от начала испытания до момента достижения допустимого (критического) значения контролируемой характеристики.

Окончанием времени экспериментального хранения считают срок, соответствующий его стандартному сроку годности, либо момент, когда биопрепарат перестанет удовлетворять требованиям соответствующих нормативных документов, либо когда он признается непригодным по одному или нескольким контролируемым показателям. При этом, несмотря на то, что более высокая температура обеспечивает быстрое получение результатов, она не должна превышать пределов, за которыми происходят изменения одного из определяемых показателей качества биопрепаратов – внешнего вида (для БКД – это изменение содержания каротиноидов).

В связи с изложенным выбрано время испытания 90 суток, что соответствует 810 суткам хранения при стандартных условиях. Начало эксперимента 15.10.2009 года, окончание 20.01.2010 года.

3. Выбор показателей качества, подлежащих контролю. Как показывает опыт стандартного хранения Баксин-вет, в качестве контролируемых показателей следует брать нормируемые техническими условиями показатели: основное содержание в БКД каротиноидов, и дополнительные – сыпучесть, слеживаемость, влажность, которые изменяются в течение срока хранения и позволяют зафиксировать изменение качества.

4. Проведение испытаний. Образцы БКД приготовлены из одной партии Баксин-вет и выдерживались как при стандартных условиях хранения (T=20°C) с определением действительных значений контролируемых показателей через три месяца в течение гарантийного срока хранения (два года), так и в условиях опыта по ускоренному старению при трех температурах, (°C): 30, 50 и 80, непрерывно через каждые 30

суток в течение всего заданного срока и дополнительно за 10 суток до окончания эксперимента соответственно в термостате в соответствии с «Временной инструкцией по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода “ускоренного старения” при повышенной температуре. И-42-2-82. Министерство здравоохранения СССР. Министерство медицинской промышленности. 1983 г.» и «Методами контроля бактериологических питательных сред. Методические указания. Мук 4.2.2316-08 (утв. Роспотребнадзором 18.01.2008)».

5. Обработка результатов. Результаты испытаний представлены в таблице контролируемых показателей качества препарата Баксин-вет и БКД (10%-ной концентрации).

Произведя расчет по формуле (1), установили, что гарантированные сроки годности препарата Баксин-вет и БКД, приготовленной из исходного по усовершенствованной методике методом капиллярно-химического обезвоживания, составляют 2 года при условии хранения в герметичной упаковке, в сухом, чистом, защищенном от света, в вентилируемом помещении при температуре от 20°C до 25°C.

Список литературы

1. Временная инструкция «По проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре». – М., 1983, 13 с.
2. Валентас К., Ротштейн Э., Синех Р.П. Пищевая инженерия: Справочник / Пер. с англ. – СПб: Профессия, 2004, 386 с.
3. Стриков В.Н. Биоэтические аспекты разработки и исследования концентрированных основ // Пиво и напитки, 2001, № 5. – С. 10-11.
4. Методические указания 4.2.727-99 Гигиеническая оценка сроков годности пищевых продуктов. – М., 1998. – С. 74.
5. Актериан С. Способ прогнозирования сроков годности пищевых продуктов с использованием качественных характеристик и факторов окружающей среды // Известия вузов. Пищевая технология, 1997, № 6. – С. 66-67.
6. Базарнова Ю.Г. Применение кинетического моделирования для прогнозирования сроков годности коровьего масла // Хранение и переработка сельхозсырья, 2005, № 8. – С. 19-23.
7. Выродов И.П. Способы прогнозирования сроков годности пищевых продуктов // Известия вузов. Пищевая технология, 1998, № 5-6. – С. 87-88.

Контактная информация:

Дрель Ирина Викторовна, drel_irina@mail.ru

Таблица 2

Контролируемый показатель Баксин-вет и БКД в процессе ускоренного старения при различных температурах

№ п/п	Баксин-вет	N	Содержание каротиноидов в процессе старения, мг/100 г									Исходное содержание каротиноидов, мг/100г
			30 суток			60 суток			90 суток*			
			30°C	50°C	80°C	30°C	50°C	80°C	30°C	50°C	80°C	
1.	Исходный	3	12,0±1,4	11,6±1,3	9,0±0,8	12,0±1,4	8,0±0,9	1,0±1,1	10,0±1,2	4,0±0,4	0,87±0,09	14,0±1,4
2.	10%-ный концентрат	8	1,27±0,13	1,26±0,12	1,22±0,12	1,26±0,12	1,24±0,12	1,22±0,12	1,38±0,14	1,22±0,12	0,32±0,03	1,28±0,13

* Показатели содержания каротиноидов за 10 суток до окончания опыта совпадают с показателями на 90-е сутки.



ФОТОАКТИВИРУЕМЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ КРАСИТЕЛИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

В работе рассмотрены принципы дизайна, методы получения, свойства и области применения фотоактивируемых флуоресцентных красителей (ФФК). Особенностью ФФК является способность переходить из так называемой «замаскированной формы» во флуоресцентную форму под действием УФ или света видимого диапазона. Использование ФФК в биологии и медицине человека и животных является перспективным для получения изображений биологических объектов и процессов в реальном времени со сверхвысоким разрешением.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: клеточные маркеры, красители, флуоресценция, микроскопия, биохимия, клеточная биология.

V.N. BELOV

Max-Planck-Institute of Biophysical Chemistry, Göttingen, Germany

S.Yu. ZAITSEV

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

PHOTOACTIVATED FLUORESCENT DYES AND PROSPECTS OF THEIR APPLICATIONS IN BIOLOGY AND MEDICINE

The principles of design, methods of preparations, properties and fields of applications of the photoactivated fluorescent dyes (PFD) are described in this paper. A PFD peculiarity is the ability to switch between the caged and fluorescent forms by UV- or VIS-illumination. The applications of PFD in biology and medicine of humans and animals is promising for the imaging of the biological objects and processes in the real time and at high resolution.

KEYWORDS: cell markers, dyes, fluorescence, microscopy, biochemistry, cell biology.

1. Введение

Одной из важных задач современной биологии и фундаментальной медицины является создание и применение новых фотоактивируемых флуоресцентных красителей (ФФК), способных, во-первых, проникать через клеточную мембрану и избирательно зондировать микро- и нанообъекты внутри клеток, а во-вторых, обеспечивать сверхвысокое оптическое разрешение в микроскопии клеток, органов и тканей человека и животных [1-10]. Актуальным подходом к решению указанных задач является введение в молекулы флуоресцентных красителей (например родаминов) новых компактных фоточувствительных групп (например амидных) [11-14], что дает возможность перевести их в так называемую «закрытую» (или «спиросочлененную») бесцветную форму (I) и способствует повышению их мембранной проницаемости. Облучение светом с длиной волны ≥ 375 нм вызывает раскрытие пятичленного цикла и регенерирует окрашенную флуоресцентную форму (II) (рис. 1).

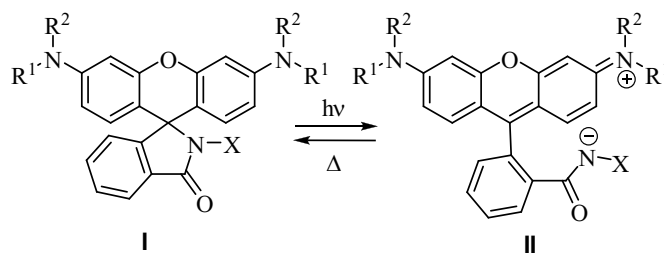


Рис. 1. Фотохромная обратимая реакция производных родаминов с компактными фоточувствительными группами: I – «закрытая» («спиросочлененная») бесцветная форма, II – «открытая» окрашенная (флуоресцентная) форма ФФК

Изменяя мощность облучающего света и его локализацию, можно варьировать число и пространственное расположение вновь образовавшихся флуоресцентных «зондов», а затем отслеживать их движение, определять форму и взаимное расположение клеточных и субклеточных объектов, помеченных этими (поначалу «замаскированными») красителями. Существующие в



данной области проблемы и способы их решения сконцентрированы на создании методик фотоактивирования отдельных молекул, позволяющих не только воссоздать трехмерное строение «нативных» клеточных объектов, но и получать их изображения с оптическим разрешением менее 100 нм [1, 17]. В данной работе авторы стремились обобщить имеющиеся данные и предложить оптимальные пути решения указанных проблем путем разработки новых флуоресцентных реагентов для маркировки различных структур в биологических системах.

2. Принципы дизайна и свойства фотоактивируемых флуоресцентных красителей

Несмотря на масштабные исследования зарубежных и российских ученых в области флуоресцентных красителей [1, 2], долгое время не удавалось подойти к решению обозначенных выше проблем. Только в 1977 г. появилось первое короткое сообщение о фотохромной реакции амидов родамина [10], а в 2007 г. было по-

казано [12, 17], что с помощью фоточувствительного амида родамина Б можно получать оптические изображения цельных (фиксированных) клеток с разрешением около 40-50 нм. В качестве рабочего вещества использовалась «спиросочлененная» форма амида **3a** (рис. 2), снабженная N-гидрокси(сульфо)сукцинимидным звеном, необходимым для увеличения водорастворимости реагента и «привязки» его к биомолекулам. Облучение бесцветной «спироамидной» формы светом с длиной волны 350-375 нм (или 757 нм в «двухфотонном» режиме) регенерирует «открытую» (окрашенную и флуоресцирующую) форму красителя, излучающую при ~580 нм (рис. 3).

Максимально достижимое разрешение R зависит от числа зарегистрированных фотонов n (от одной молекулы) и определяется формулой: $R = K/\sqrt{n}$; где K – «константа прибора» (при ~270 нм) [12]. Этот подход впоследствии был развит и распространен на другие родамины, что описано в работах [13, 14].

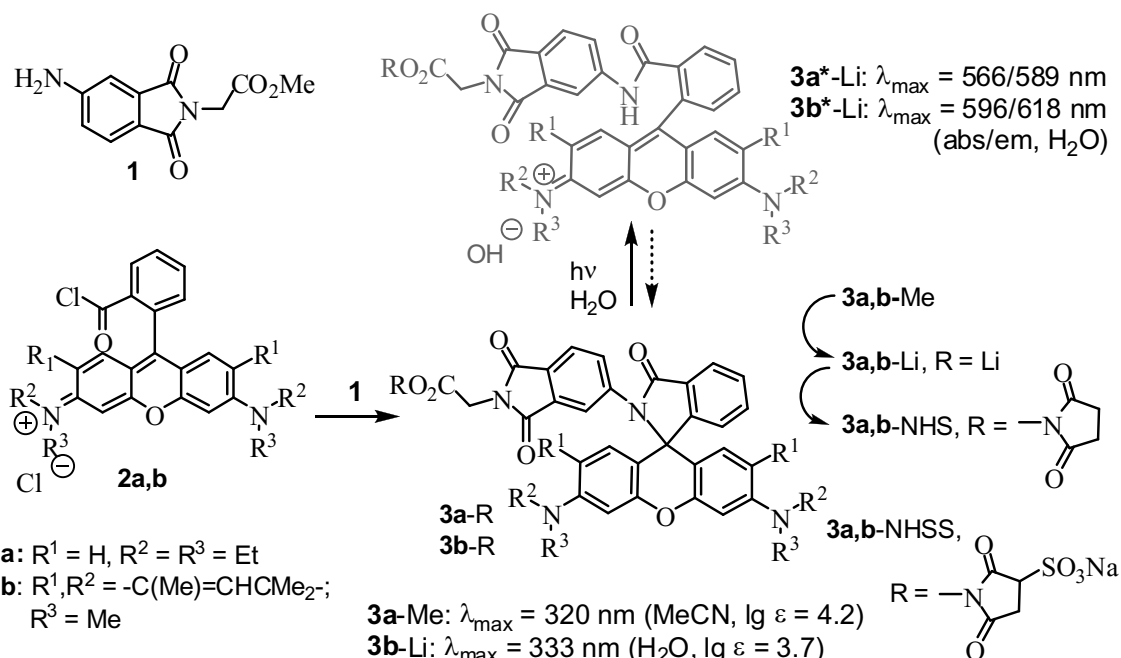


Рис. 2. Фотоактивируемые литиевые соли **3a,b-Li** и (водорастворимые) N-гидрокси(сульфо)сукцинимидные эфиры **3a,b-NHS**, легко связывающиеся с антителами и использующиеся в иммуномаркировании для получения «сверхвысокоразрешенных» изображений [12-14]

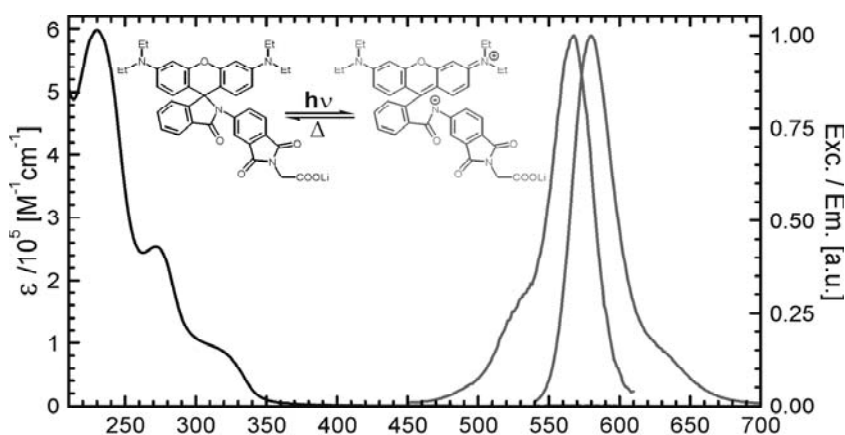


Рис. 3. Спектры абсорбции (левый, черный), поглощения (средний, красный) и флуоресценции (правый, красный) ФК **3a** [12]

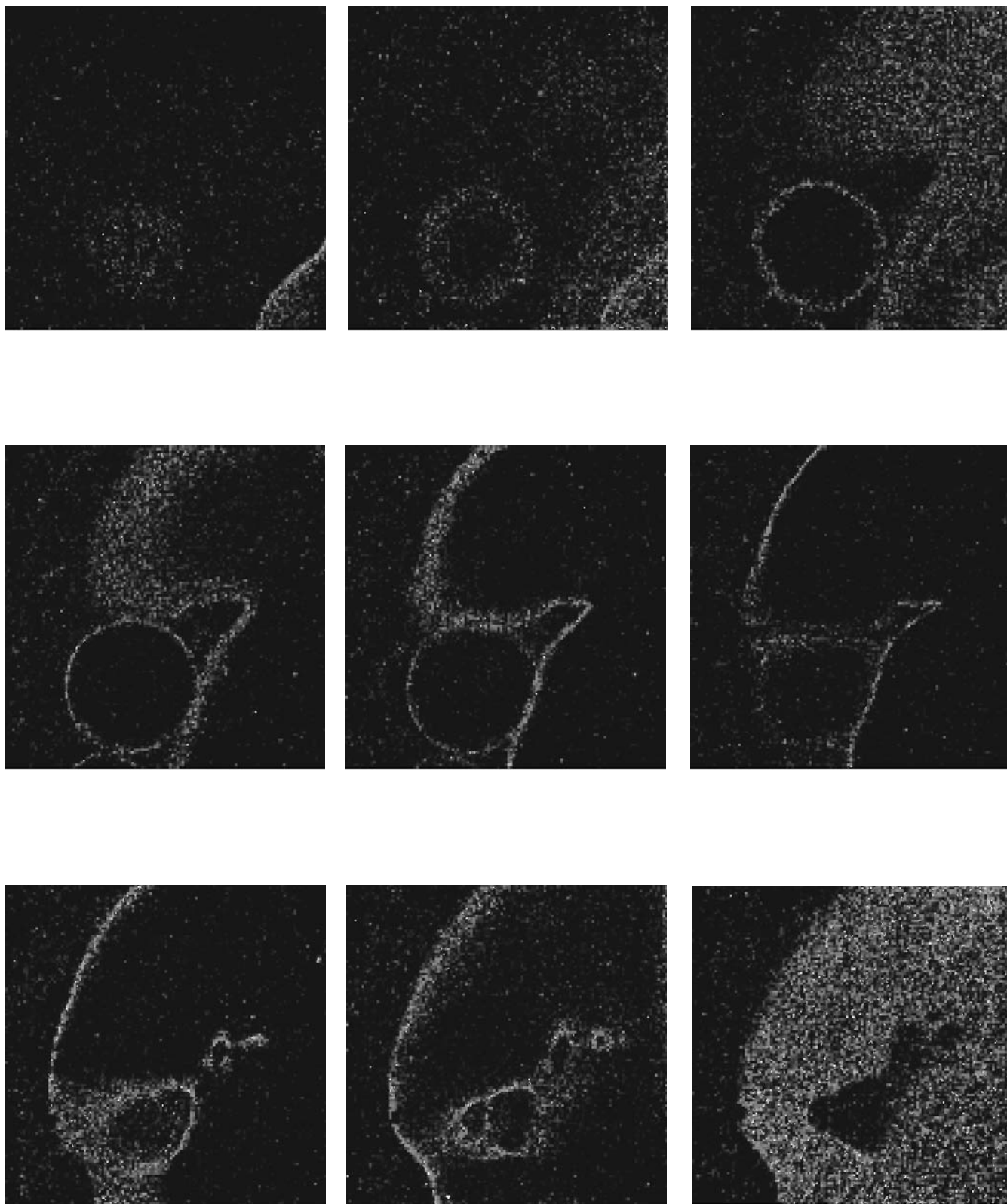


Рис. 4. Изображения, полученные модифицированным методом конфокальной микроскопии (2PA-PALMIRA), в «двухфотонном» режиме с последовательным разрешением вдоль вертикальной оси (z) структуры ламина клеток глиомы человека (U373MG), окрашенных ФФК (3a-NHSS). Размеры каждого изображения 12,5 мкм², размеры пикселя: 30 нм, расстояние между «оптическими срезами» – 600 нм; общее число точек 13880



С их помощью удалось реализовать новый подход для получения изображений и определения взаимного расположения различных клеточных объектов со сверхвысоким оптическим разрешением (рис. 4). Указанный подход обеспечивает возможность двухфотонной фотоактивации, а значит, и получение так называемых «оптических срезов», т.е. сверхвысокого разрешения не только в одной плоскости ($x-y$), но и вдоль вертикальной оси (z). Такие оптические «срезы» выполняются с шагом ~ 500 нм, с последующей реконструкцией трехмерного изображения, что невозможно в альтернативных подходах к получению «наноскопических изображений» [18-24]. Дальнейшее развитие указанного подхода предполагает устранение недостатков спирочлененных фоточувствительных родаминамидов (улучшение их растворимости в воде, специфичности связывания с целевыми биопродуктами, обратимости фотоактивации и т.д.) и разработку новых типов ФФК.

3. Перспективы использования фотоактивируемых флуоресцентных красителей

Авторы полагают несомненным, что новые ФФК и реагенты на их основе позволят значительно улучшить методы биологической микро- и наноскопии в технологии живых систем (клеток, тканей, органов человека и животных). В частности, уже разработаны новые типы ФФК, технологические параметры фотоактивации и методические рекомендации по их использованию в принципиально новых схемах получения изображения биологических объектов, основанных на «концевом» поглощении в видимой области (420 нм). Новые типы ФФК отличает наличие компактной фоточувствительной группировки, способной генерировать флуоресцентную форму (рис. 2 и 3), обладающую достаточно высоким квантовым выходом флуоресценции (более 50%) при облучении светом не только в УФ (350-375 нм), но и в видимой области; достаточная растворимость в физиологических растворах (более 1 мкмоль/л), а также способность генерировать флуоресцентную форму после связывания с белками клеточными структурами или (модельными) клеточными мембранами (рис. 4).

Результаты работы уже включены в образовательные программы по дисциплинам «Биохимия», «Биохимия мембран», «Спектральные методы исследования» на ветеринарно-биологическом факультете ФГОУ ВПО МГАВМиБ и используются в образовательном процессе на базе научно-образовательного центра ФГОУ ВПО МГАВМиБ.

Использование ФФК для окрашивания микропрепаратов различных органов и тканей человека и животных является перспективным для получения изображений биологических объектов и процессов в реальном времени со сверхвысоким разрешением, что позволит уточнить детали метаболических реакций, процессов регенерации на клеточном уровне, явлений молекулярного узнавания и самоорганизации, как и многих других важных направлений биомедицинских исследований [25].

Данная работа выполнена по направлению Минобрнауки РФ «Проведение научных исследований коллективами под руководством приглашенных исследователей в области биологии, сельскохозяйственных наук и технологии живых систем» шифр «2009-1.5-501-

002» под руководством приглашенного исследователя В.Н. Белова в рамках научно-исследовательского проекта с Федеральным агентством по науке и инновациям (гос. контракт №02.740.11.5013) по федеральной целевой программе «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы.

Список литературы

1. Hell, S.W. Far-field optical nanoscopy; in: Single molecule spectroscopy in chemistry, physics and biology / Ed. A. Graellsund, R. Rigler, J. – Berlin: Windengren Springer, 2009. – P. 365-398.
2. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. – М.: Наука, 1980. – С. 320.
3. Fernández-Suárez, M., Ting, A.Y. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2008. – V. 9. – P. 929-943.
4. Evanko, D. // Nature Methods, 2009. – V. 6. – P. 19-20.
5. Hell, S.W. // Nature Methods, 2009. – V. 6. – P. 24-32.
6. Zhuang, X. // Nature Photonics, 2009. – V. 3. – P. 365-367.
7. Lippincott-Schwartz, J., Manley, S. // Nature Methods, 2009. – V. 6. – P. 21-23.
8. Huang, B., Bates, M., Zhuang, X. // Annu. Rev. Biochem., 2009. – V. 78. – P. 993-1016.
9. Heilemann, M., Dedeker, P., Hofkens, J., Sauer, M. // Laser Photonics Rev., 2009. – V. 3. – P. 180-202.
10. Knauer, K.H., Gleiter, R. // Angew. Chem. Int. Ed., 1977. – V. 16. – P. 113-114.
11. Willwohl, H., Wolfrum, J., Gleiter, R. // Laser Chem., 1989. – V. 10. – P. 63-72.
12. Fölling, J., Belov, V.N., Kunetsky, R. et al. // Angew. Chem. Int. Ed., 2007. – V. 46. – P. 6266-6270.
13. Bossi, M., Fölling, J., Belov, V.N. et al. // Nano Letters, 2008. – V. 8. – P. 2463-2468.
14. Belov, V.N., Bossi, M., Fölling, J. et al. // Chem. Eur. J., 2009. – V. 15. – P. 10762-10776.
15. Beija, M., Afonso, C. A. M., Martinho, J. M. G. // Chem. Soc. Rev., 2009. – V. 38. – P. 2410-2433.
16. Gonçalves, M.S.T. // Chem. Rev., 2009. – V. 109. – P. 190-212.
17. Hell, S. W. // Science, 2007. – V. 316. – P. 1153-1158.
18. Betzig, E., Patterson, G.H. et al. // Science, 2006. – V. 313. – P. 1642-1645.
19. Schroff, H., Galbraith, C. G., Galbraith, J.A. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci., 2007. – V. 104. – P. 20308-20313.
20. Rust, M. J., Bates, M., Zhuang, X. // Nature Methods, 2006. – V. 3. – P. 793-796.
21. Bates, M., Huang, B., Dempsey, G.T., Zhuang, X. // Science, 2007. – V. 317. – P. 1749-1753.
22. Huang, B., Wang, W., Bates, M., Zhuang, X. // Science, 2008. – V. 319. – P. 810-813.
23. Huang, B., Jones, S. A., Brandenburg, B., Zhuang, X. // Nature Methods, 2008. – V. 5. – P. 1047-1052.
24. Heilmann, H., Van de Linde, S., Mukherjee, A., Sauer, A. // Angew. Chem. Int. Ed., 2009. – V. 48. – P. 6903-6908.
25. Зайцев С.Ю. Супрамолекулярные наноразмерные системы на границе раздела фаз: Концепции и перспективы для бионанотехнологий. – М.: ЛЕНАНД, 2010. – С. 208.

Контактная информация:
С. Ю. Зайцев, szaitsev@mail.ru



ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина»

ВЛИЯНИЕ КОЛЛАГЕНА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ *IN VITRO* АНТИМИКРОБНЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ АНТИСЕПТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА КОЛМЕДОКС

При изучении динамики высвобождения доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата *in vitro* из образцов коллагенсодержащего антисептического средства Колмедокс было установлено пролонгирующее действие коллагена для этих компонентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Колмедокс, биосистема *in vitro*, динамика высвобождения, коллаген, доксициклин, метронидазол, хлоргексидин биглюконат.

I. V. KIS

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

INFLUENCE OF COLLAGEN ON DURATION OF LIBERATION *IN VITRO* ANTIMICROBIC COMPONENTS FROM THE ANTISEPTIC MEANS «KOLMEDOKS»

At studying of dynamics of liberation of doxycycline, metronidazole and chlorhexidin *in vitro* from samples of an antiseptic of Kolmedoks containing collagen prolonging action of collagen has been established.

KEYWORDS: Kolmedoks, biosystem *in vitro*, dynamics of liberation, collagen, doxycycline, metronidazole, chlorhexidin.

Коллаген – основной структурный белок соединительной ткани, выполняющий важные биохимические функции, в том числе и репаративную. Повышенный интерес к коллагену обусловлен тем, что он сочетает в себе многие свойства синтетических полимеров (прочность, эластичность, способность образовывать различные структуры и др.), а также свойства биологических полимеров. При этом активно проявляется синергизм действия основы-носителя и инкорпорированных в нее лекарственных средств; биосовместимость; отсутствие токсичности и канцерогенности и пр. [1, 2].

Коллаген как пластический материал обладает низкой антигенностью, способен образовывать комплексы с биологически активными веществами и стимулирует регенерацию тканей организма [4]. Эти свойства коллагена и позволяют получать пластические материалы направленного действия: ранозаживляющие, антибактериальные, гемостатические и др.

Важным потребительским свойством лекарственного средства на основе коллагенов является способность проявлять высокую активность в течение значительного времени. При этом большое значение имеет разработка комплексных лекарственных форм пролонгированного действия, включающих несколько антибактериальных компонентов, которые могут быть более эффективны при полиэтиологических заболеваниях животных [10].

Одним из критериев оценки эффективности репаративной лекарственной формы является определение скорости высвобождения антисептических компонентов и продолжительности их действия на месте введения.

На основании данных литературы и результатов собственных исследований нами было разработано колла-

генсодержащее антисептическое средство Колмедокс. Для обеспечения широкого спектра антимикробного действия в качестве антисептических компонентов были испытаны доксициклин, метронидазол и хлоргексидин биглюконат, зарекомендовавшие себя в течение длительного времени как действующие вещества, применяемые в составе монокомпонентных антисептических лекарственных форм, в том числе и коллагенсодержащих [3, 5, 6, 7, 8, 9, 11]. При этом мы основывались на сведениях об их сравнительно высокой эффективности и отсутствии негативного влияния на организм млекопитающих, а также на том, что эти субстанции доступны и зарегистрированы в РФ.

Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния коллагена на продолжительность высвобождения антимикробных компонентов *in vitro* из антисептического средства Колмедокс.

Для изучения влияния коллагена на продолжительность высвобождения антисептических компонентов во внешнюю среду были испытаны лабораторные образцы препарата с различным содержанием коллагена, приготовленные в процессе разработки антисептического средства Колмедокс. Динамику высвобождения доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата изучали в смоделированной биосистеме *in vitro* с использованием метода диализа через полупроницаемую мембрану. Каждый образец делили на три пробы и вносили по 0,5 мл в изготовленные нами контейнеры с дном из диализной полупроницаемой мембраны. Диализные контейнеры с испытуемым образцом помещали в «пенициллиновые» флаконы, содержащие 5 мл 0,1М раствора уксусной кислоты, закрывали пробкой



и выдерживали при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Контролем служили образцы, содержащие антисептические компоненты без коллагена. В течение 72 часов через определенные промежутки времени инкубирования контейнер с испытуемым образцом перемещали в новый флакон с раствором для диализа. После завершения опыта пробы диализата исследовали на содержание антимикробных компонентов.

Концентрацию метронидазола определяли спектрофотометрически при длине волны 277 нм. Для составления калибровочной кривой использовали образцы с известной концентрацией метронидазола. В качестве контроля служил раствор для диализа.

Содержание хлоргексидина биглюконата определяли по разработанной нами экспресс-методике, основанной на специфической реакции йода и хлоргексидина биглюконата, с образованием нерастворимого комплекса коричневого цвета. Доксциклин определяли по методике, основанной на специфической реакции треххлорного железа и тетрациклинов, с образованием оранжево-коричневого раствора. Концентрацию элюированных антисептических компонентов из образцов определяли по интенсивности окраски элюента в сравнении со стандартными пробами с известной концентрацией доксициклина и хлоргексидина биглюконата.

Чувствительность вышеописанных методов определения хлоргексидина биглюконата и доксициклина составила 20 ± 2 мкг/мл.

Результаты исследований. Одним из критериев оценки активности препаративной лекарственной формы является определение скорости высвобождения антисептических компонентов и продолжительности их действия на месте введения.

При изучении *in vitro* влияния коллагена на продолжительность высвобождения трех антисептических

компонентов из препаративных форм нами было испытано более двадцати образцов, содержащих коллаген в концентрации 0,1% и 0,5%, и образцы, не содержащие коллаген.

Все испытуемые образцы содержали доксициклина 20 мг/мл, метронидазола 20 мг/мл и хлоргексидина биглюконата 4 мг/мл.

При внесении в диализный контейнер по 0,5 мл образца фактическое содержание доксициклина составило 10 мг, метронидазола – 10 мг, хлоргексидина – 2 мг.

По экспериментальным данным построены графики динамики высвобождения из опытных образцов доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата в диализный раствор в течение 72 часов.

Результаты исследований представлены на рис. 1-4.

В результате проведенных исследований было установлено (рис. 1), что из трехкомпонентных образцов полное высвобождение доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата в диализный раствор происходило за 36 часов.

Приведенные результаты исследований (рис. 2) свидетельствуют о том, что внесение в композицию 0,1% коллагена приводит к значительному замедлению диффузии доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата через полупроницаемую мембрану в элюирующий раствор. Из образцов антисептического средства Колмедокс (содержание коллагена 0,1%) через полупроницаемую мембрану все действующие компоненты диффундировали только через 60 часов. Этот факт свидетельствует о том, что внесение при определенных условиях в композицию коллагена приводит к образованию нестойких биокомпозитных комплексов с антисептическими компонентами, что влияет на скорость их диссоциации и последующей диффузии через диализную мембрану.

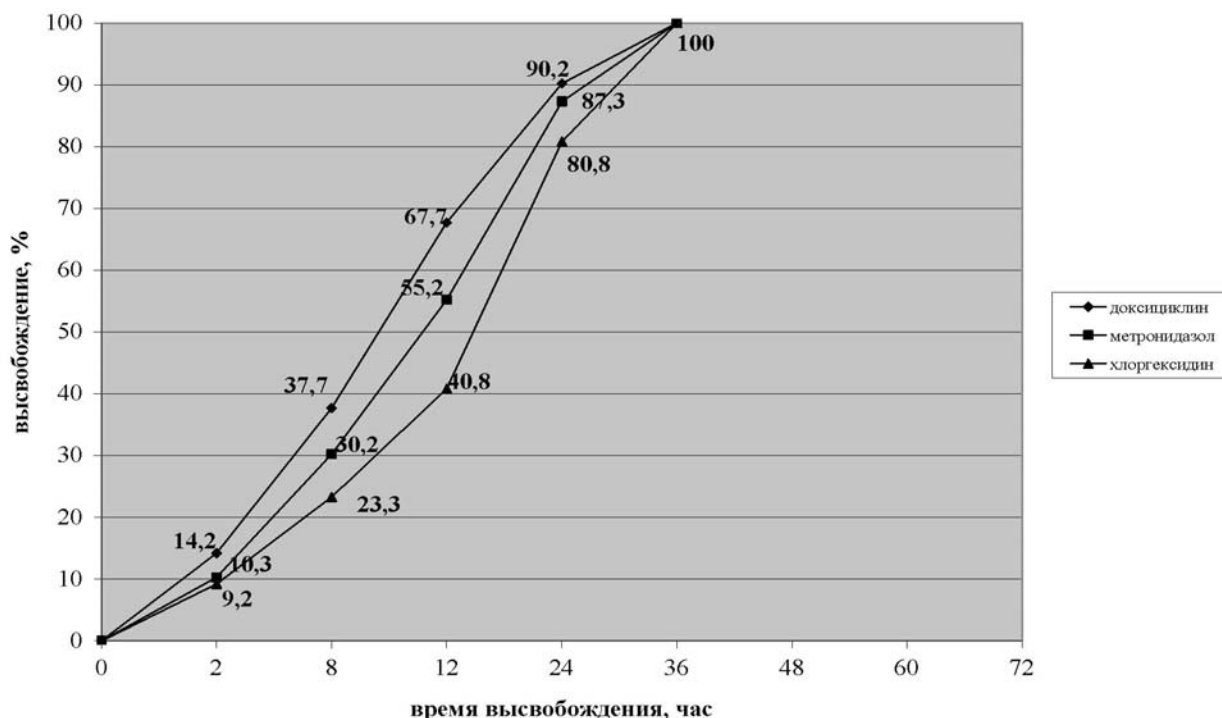


Рис. 1. Динамика высвобождения доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата *in vitro* из образцов антисептического средства без коллагена

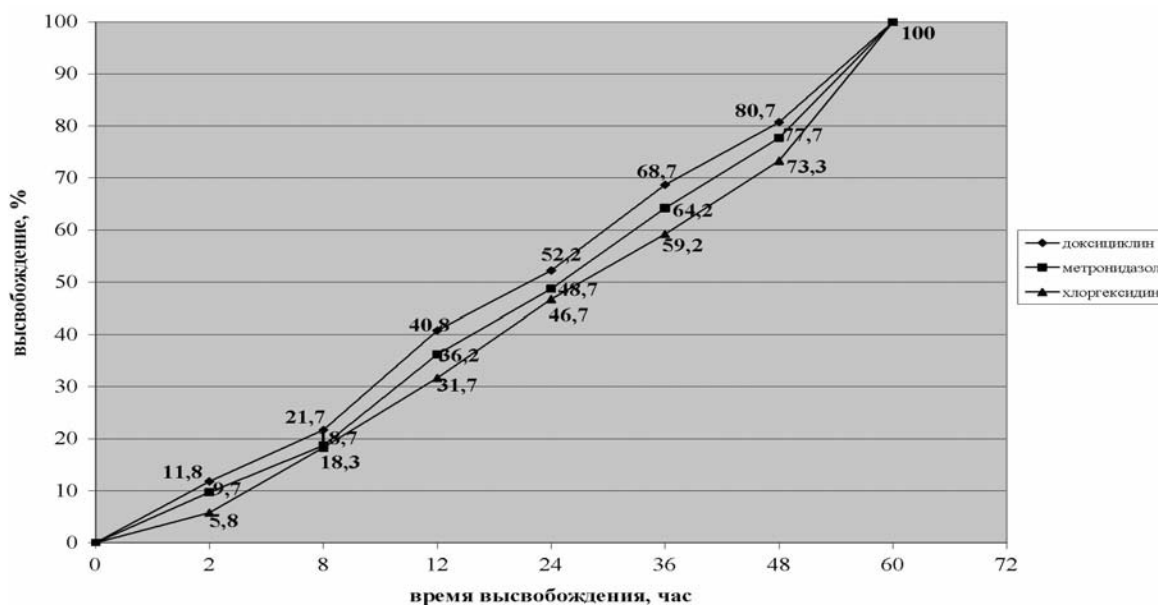


Рис. 2. Динамика высвобождения доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата in vitro из образцов антисептического средства, содержащего 0,1% коллагена

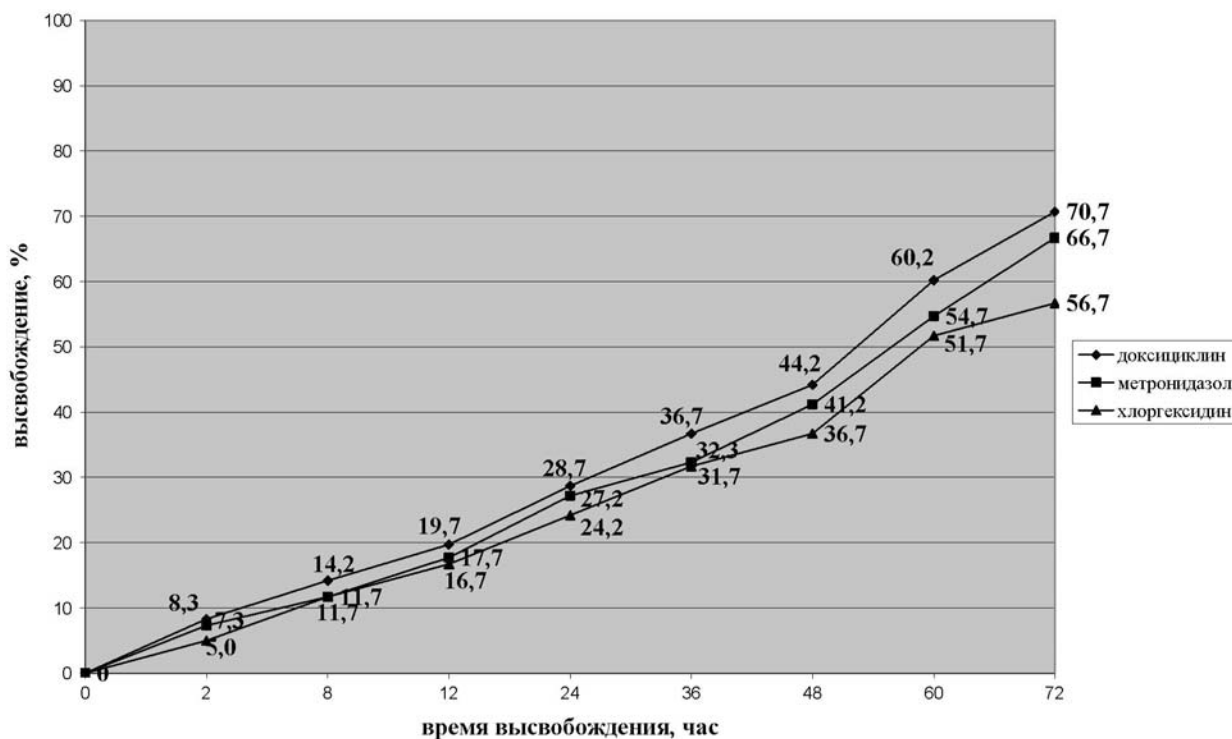


Рис. 3. Динамика высвобождения доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата in vitro из образцов антисептического средства, содержащего 0,5% коллагена

Из препаративной формы, содержащей 0,5% коллагена, образованные биокомпози́ты на основе коллагеновой матрицы оказывают более значительное влияние на степень высвобождения антисептических компонентов in vitro. На рис. 3 отмечено, что при содержании коллагена 0,5% в лекарственной форме Колмедокс в течение 72 часов элиминировало только около 70% антисептических компонентов.

В результате проведенных исследований установлено также, что наиболее прочным оказался биокомпози́т коллаген-хлоргексидин биглюконат. Динамика высвобождения хлоргексидина биглюконата показала,

что этот антисептический компонент во всех вариантах элюировал наиболее медленно. По всей видимости, это связано с тем, что положительно заряженные молекулы основания хлоргексидина биглюконата в слабкокислой среде способны образовывать комплексы посредством ионного связывания с карбоксильными группами коллагеновой матрицы (Барабаш Л.С. и др., 2003).

Эти предположения подтверждают данные Е.В. Уваровой и И.Х. Латыповой (2007), свидетельствующие о том, что благодаря своей катионной природе, хлоргексидин биглюконат хорошо связывается с кожей и слизистыми оболочками.

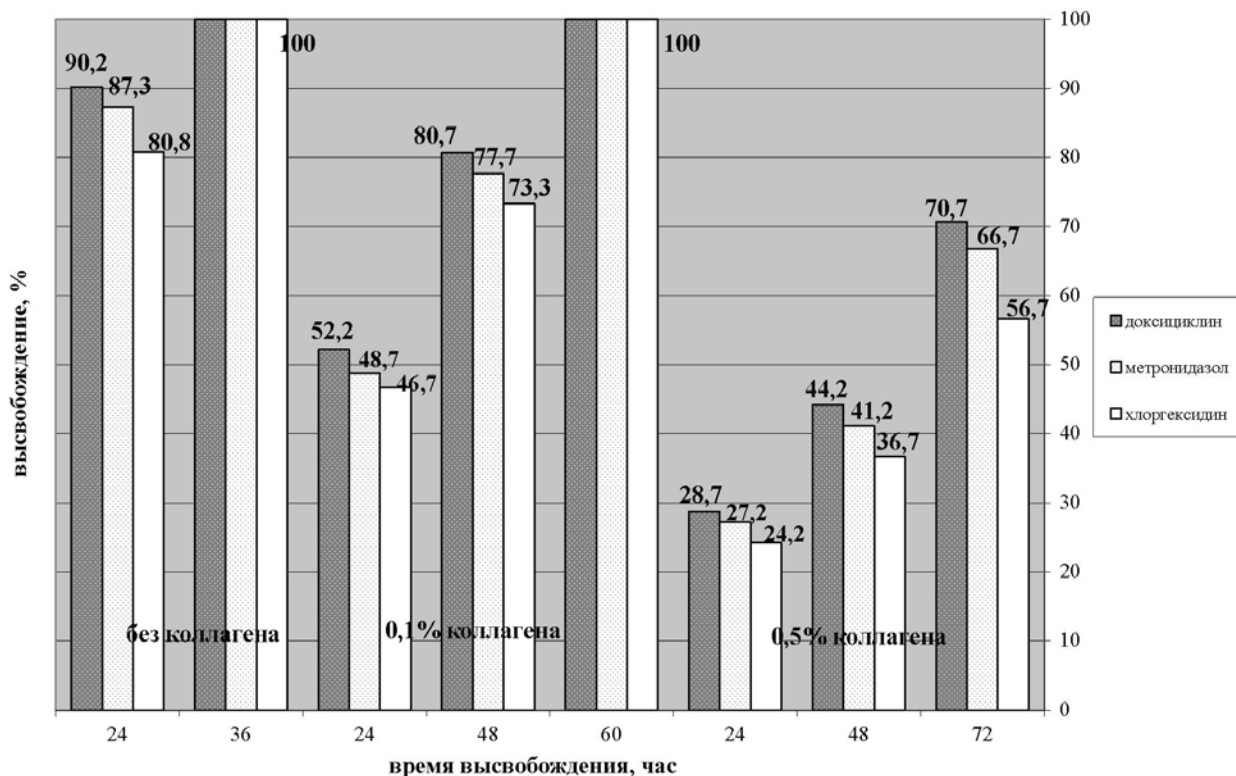


Рис. 4. Сравнительная характеристика динамики высвобождения доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата in vitro из образцов антисептического средства

Отмеченный факт, по всей видимости, играет существенное клиническое значение для более пролонгированного местного действия хлоргексидина биглюконата в сочетании с более ранним высвобождением доксициклина и метронидазола.

Заключение. На основании анализа и сравнительной характеристики динамики высвобождения доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата in vitro из образцов коллагенсодержащего антисептического средства было установлено пролонгирующее действие коллагена для этих компонентов. Причем скорость высвобождения антисептических компонентов обратно пропорциональна концентрации коллагена в препаративной форме. При концентрации коллагена 0,5% в антисептическом средстве скорость элиминации доксициклина, метронидазола и хлоргексидина биглюконата уменьшается почти в два раза – с 36 часов до 72 часов в сравнении с контрольными образцами. Причем наиболее медленно высвобождался хлоргексидин биглюконат.

Список литературы

1. Абоянц, Р.К. Информация о препаратах, выпускаемых ОАО «Лужский завод «Белкозин» / Р.К. Абоянц // ФАРМиндекс Практик, 2006. – Спец. выпуск. – С. 3.
2. Адамян, А.А. Современные подходы к выбору средств местного лечения ран / А.А. Адамян // Вестн. спорт. медицины России, 1996, № 1-2. – С. 46-47.
3. Барер, Г.М. Эффективность применения геля Коллост в комбинации с антибактериальными препаратами для лечения парадонтита / Г.М. Барер, В.Н. Царев, О.О. Янушевич, О.В. Соловьева // Парадонтология, 2002, № 3 (24). – С. 62-64.
4. Волова, Л.Т. Биотехнологические аспекты получения коллагенсодержащих раневых покрытий и их применение в клинике

- / Л.Т. Волова, Л.В. Колсанов, А.Г. Кириленко // Вестник новых медицинских технологий, 2002. – Т. IX, №4. – С. 36-38.
5. Кулакова, Л.А. Применение коллагеновых губок «метуракол» в лечении незаживающих трепанационных полостей среднего уха / Л.А. Кулакова, Р.К. Абоянц, Е.Г. Трякина: Мат. рос. научно-практич. конф. «Современные проблемы заболеваний верхних дыхательных путей и уха». – М.: РАГС, 2002.
6. Митронин, А.В. Клинико-микробиологическая оценка эффективности эндоканального применения биоактивного геля Коллапан в лечении хронического периодонтита / А.В. Митронин, В.Н. Царев // Новое в стоматологии, 2004, №5. – С. 50-60.
7. Патент № 2088240, Россия, МКИ А61К35/32. Способ получения препарата для активации репаративного остеогенеза / Соловьев Л.Г., Владимировна Е.В., Четчикова М.М. – № 93055814/14. Заявл. 09.12.93. Оpubл. 27.08.97.
8. Пхакадзе, Т.Я. Микробиологические аспекты применения новых коллаген-содержащих покрытий для заживления экспериментальных ран / Т.Я. Пхакадзе, Г.Г. Окропиридзе, Г.Н. Берченко, Г.А. Кесян, Р.З. Уразильев, М.Г. Какабадзе: Тез. 4-й межд. конф. МАКМАХ «Антимикробная терапия», 2001. – С. 31.
9. Уварова, Е.В. Применение препарата Гексикон® в лечении воспалительных заболеваний влагалища неспецифической этиологии / Е.В. Уварова, Н.Х. Латыпова // Репродуктивное здоровье детей и подростков, 2007, №4. – С. 48-54.
10. Шабунин, С.В. Современные принципы и подходы к созданию лечебно-профилактических средств в ветеринарии / С.В. Шабунин: Мат. II съезда вет. фармакологов и токсикологов России «Современные проблемы ветеринарной микробиологии и токсикологии». – Казань, 2009. – С. 21.
11. Vinholis, A.H. Subgingival utilization of a 1% chlorhexidin collagen gel for the treatment of periodontal pockets. A clinical and microbiological study / A.H. Vinholis, Figueiredo L.C., Marcantonio Junior E., Marcantonio R.A. // Braz. Dent. J., 2001, 12(3). – P. 209-213.

Контактная информация:
Кис Ирина Владимировна, 8 (926)5861152



АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ТУШЕК БРОЙЛЕРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЛИТИЯ КАРБОНАТА

При длительной схеме применения лития карбоната в дозе 15 мг/кг массы тела бройлеров была установлена закономерность изменения аминокислотного состава белой и красной мышечной ткани. Так, в грудной мышце отмечается увеличение суммарного количества незаменимых аминокислот на 1,25% по сравнению с контролем, но снижение заменимых на 1,31%. Такая же тенденция зафиксирована и в красной мышце: увеличение незаменимых аминокислот отмечалось на 0,96%, а уменьшение заменимых – на 1,03%.

Ключевые слова: аминокислоты, бройлеры, лития карбонат.

M.F. BOROVKOV, A.V. KALASHNIKOVA, V.M. BACHINSKAYA

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

AMINO ACID STRUCTURE OF BROILERS AT APPLICATION LITHIUM CARBONATE

At the long scheme of application of lithium of a carbonate in a dose of 15 mg/kg of broiler. It has been established amino acids structure of a white and red muscular fabric. Where in a chest muscle irreplaceable amino acids of skilled group exceeded the control on 1,25%, and replaceable were less in relation to the control on 1,31%. Irreplaceable amino acids of a red muscular fabric in skilled group were above on 0,96% in relation to the control, and replaceable amino acids were less in experience – on 1,03%.

KEYWORDS: amino acid, broiler, lithium carbonate.

Для производителя продукции важнейший показатель – это количество, а для потребителя – это качество потребляемой продукции. Качество сырья и продуктов питания человека является основополагающим в защите здоровья населения любой страны.

В понятие «качество продуктов питания» включены показатели полноценности (пищевая и биологическая ценность), доброкачественности и безвредности. Биологическая ценность продукта определяется качеством белковых компонентов, их аминокислотным составом и выражается степенью задержки азота пищи в организме растущих животных. Если в белке нет хотя бы одной незаменимой аминокислоты, то он считается неполноценным. Такие аминокислоты, как гистидин, тирозин, аргинин, называют полузаменимыми, так как их образование из других аминокислот протекает медленно и не всегда удовлетворяет потребности организма (Антипов И.А., Глотов Л.В., Рогов И.А., 2004).

По мнению ряда ученых, химический состав мяса является одним из объективных показателей его питательной ценности. Существует тесная коррелятивная связь между усвоением пищи и степенью сбалансирования ее химического состава. На химический состав мяса оказывают влияние вид и порода животных, его пол, возраст, упитанность, условия содержания и кормления (Житенко П.В., 1987; Гуцин В.В., Кулишев Б.В. и др., 2002).

Лития карбонат используется с кормом для увеличения прироста цыплят-бройлеров. Выявить влияние данного препарата на пищевую и биологическую ценность мяса было нашей задачей.

Материалы и методы. Нами был проведен опыт на птицефабрике ОАО «Бройлер Рязани», где было сформировано две группы бройлеров кросса «Смена-7» по 400 голов в каждой. Опытной группе бройлеров с основным рационом задавали лития карбонат в дозе 15 мг/кг массы тела (м.т.) по предложенной схеме в два этапа по восемь дней. Был проведен убой бройлеров, и для проведения исследований было отобрано 12 проб красной и белой мышечной ткани.

Исследования аминокислотного состава белой мышцы бройлеров опытных и контрольных групп выявили 16 аминокислот, семь из которых являются незаменимыми и определяют ценность белка мышц (табл. 1). Среди полузаменимых аминокислот грудных мышц бройлеров подкормка литием приводила к тенденции увеличения количества гистидина на 0,52% к сырому протеину при сокращении аргинина на 0,65%. Незаменимые аминокислоты белой мышцы опытной группы бройлеров под влиянием лития вызвали тенденцию к повышению уровня валина на 0,76%, лизина – на 0,57%, треонина – на 0,29%, в то время как содержание лейцина и фенилаланина имело тенденцию к снижению соответственно на 0,19 и 0,2%. Это и привело к несоответствию изменению суммы незаменимых аминокислот в белой мышце бройлеров: $33,8 \pm 0,91$ у птиц опытной группы и $32,55 \pm 1,02$ у интактных бройлеров. В сумме заменимых аминокислот (% к сырому протеину) белков грудной мышцы бройлеров, получавших лития карбонат, установлена тенденция к уменьшению этого показателя на 1,31%, как и по уровню аргинина (0,65%) и глютаминовой кислоты (0,17%). Близкий уровень в



содержании аспарагиновой кислоты, пролина, глицина выявлен в белках грудной мышцы бройлеров опытной и контрольной групп.

Таблица 1

Влияние лития карбоната на аминокислотный состав белков большой грудной мышцы (в % к СП, М±m, n=6)

Аминокислоты	Группы бройлеров	
	Опыт	Контроль
Незаменимые		
Валин	5,44±0,17	4,68±0,32
Изолейцин	1,92±0,07	1,84±0,04
Лейцин	3,52±0,06	3,71±0,06
Лизин	12,92±0,19	12,35±0,37
Метионин	1,87±0,14	1,93±0,06
Треонин	4,83±0,05	4,54±0,09
Фенилаланин	3,30±0,23	3,50±0,08
Сумма	33,8±0,91	32,55±1,02
Заменимые		
Аланин	6,65±0,06	6,35±0,11
Аргинин	4,51±0,40	5,16±0,22
Аспарагиновая кислота	12,02±0,16	12,19±0,92
Гистидин	8,47±0,16	7,95±0,81
Глицин	4,41±0,07	4,41±0,08
Глутаминовая кислота	19,56±0,24	21,11±0,97
Пролин	3,59±0,89	3,60±0,52
Серин	3,89±0,09	3,68±0,04
Тирозин	3,02±0,23	2,98±0,17
Цистин	–	–
Сумма	66,12±2,14	67,43±3,84
Сумма аминокислот	99,92	99,98

Введение в корм бройлеров соли лития карбоната вызвало тенденцию к повышению содержания в бедренных мышцах валина, лейцина, изолейцина, метионина, треонина, но не изменило количество лизина, фенилаланина (табл. 2). Полузаменимые аминокислоты в белках бедренных мышц имели тенденцию к снижению: аргинин на 1%, гистидин на 0,15%, тирозин на 0,07%, пролин на 1,33%. Заменимые аминокислоты: аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, глицин, серин, наоборот, имели тенденцию к повышению. Поэтому сумма незаменимых аминокислот в белках бройлеров опытной группы была выше на 0,16%, а заменимых аминокислот на 1,03% ниже их уровня у птиц контактной группы.

Незаменимые аминокислоты опытной группы бройлеров, такие как валин, превышали контроль на 0,19%, лейцин – на 0,32%, метионин – на 0,17%, треонин – на 0,25%, а такие аминокислоты, как изолейцин, лизин, фенилаланин незначительно превышали контрольную группу. Общая сумма незаменимых аминокислот в опыте составила 33,04±0,75, а в контрольной группе – 32,08±1,94, что превышает контроль на 0,96%.

При определении аминокислотного состава красной мышечной ткани бройлеров, которым с основным рационом задавали лития карбонат, установлено, что в опытной группе незаменимых аминокислот в бедренных мышцах на 0,96% больше, чем в контрольной группе, а в контрольной группе превышают заменимые на 1,03%.

Таблица 2

Влияние лития карбоната на аминокислотный состав белков бедренной мышечной ткани (в % к СП, М±m, n=6)

Аминокислоты	Группы бройлеров	
	Опыт	Контроль
Незаменимые		
Валин	4,08±0,16	3,89±0,76
Изолейцин	1,88±0,01	1,81±0,02
Лейцин	3,94±0,03	3,62±0,39
Лизин	12,73±0,12	12,79±0,35
Метионин	2,13±0,08	1,96±0,10
Треонин	4,92±0,16	4,67±0,10
Фенилаланин	3,36±0,19	3,34±0,22
Сумма	33,04±0,75	32,08±1,94
Заменимые		
Аланин	6,82±0,11	6,51±0,51
Аргинин	4,48±0,38	5,48±0,58
Аспарагиновая кислота	11,76±0,20	11,29±1,30
Гистидин	5,53±0,12	5,68±0,99
Глицин	4,89±0,04	4,65±0,20
Глутаминовая кислота	23,33±0,30	23,15±1,77
Пролин	3,26±0,48	4,59±0,66
Серин	4,05±0,05	3,72±0,40
Тирозин	2,77±0,16	2,84±0,11
Цистин	–	–
Сумма	66,89±1,82	67,92±6,52
Сумма аминокислот	99,93	100

Заключение. Таким образом, при длительной схеме применения лития карбоната в дозе 15 мг/кг массы тела бройлеров, была установлена закономерность изменения аминокислотного состава белой и красной мышечной ткани. Так, в грудной мышце отмечается увеличение суммарного количества незаменимых аминокислот на 1,25% по сравнению с контролем, но снижение заменимых на 1,31%. Такая же тенденция зафиксирована и в красной мышце: увеличение незаменимых аминокислот отмечалось на 0,96%, а уменьшение заменимых – на 1,03%.

Таким образом, биологическая ценность мяса бройлеров при применении лития карбоната повышалась, что подтверждает улучшение качества получаемой мясной продукции.

Список литературы

1. Антипова, Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов : Учебник для вузов / Л.В. Антипова, И.А. Глотова, И.А. Рогов. – М.: КолоС, 2004. – 571 с.
2. Гуцин, В.В. Технология полуфабрикатов из мяса птицы / В.В. Гуцин, Б.В. Кулишов, И.И. Маковеев, Н.С. Митрофанов. – М.: Колос, 2002. – 196 с.
3. Житенко, П.В. Оценка качества продуктов животноводства / П.В. Житенко. – М.: Россельхозиздат, 1987. – 208 с.

Контактная информация:
Бачинская Валентина Михайловна, 8 (915)4287091



ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НА КАЧЕСТВО МЯСА ОВЕЦ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ДОСО»

В данной статье представлены результаты исследования влияния на качество мяса овец биологически активной кормовой добавки «ДОСО» – ТУ 9365-001-00497182-2008. Исследования показали, что при применении «ДОСО» количественный показатель химического состава мяса валухов с опытных групп выше, чем в контрольных группах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: качество мяса, овцы, «ДОСО».

A.V. KULYROVA, I.V. TIKHONOV

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

RESEARCH OF INFLUENCE ON QUALITY OF MEAT OF SHEEPS OF BIOLOGICALLY ACTIVE FODDER «DOSO»

In given article results of research of influence on quality of meat of sheeps by biologically active stern of the additive «DOSO» – TC 9365-001-00497182-2008. Researches have shown, that at application «DOSO» a quantity indicator of meat of wethers from skilled groups above, than in control groups.

KEYWORDS: quality of meat, sheeps, «DOSO».

Одной из главных задач животноводства всегда было и остается производство высококачественных продуктов питания и животноводческого сырья для удовлетворения потребностей населения. Особое народно-хозяйственное значение в решении этой проблемы принадлежит овцеводству, которое дает широкий ассортимент продуктов питания и овцеводческого сырья: мясо (баранину), молоко, шерсть, смушки и меховую овчину.

Продукты питания являются важнейшим фактором жизнедеятельности человека – с момента рождения до последнего дня жизни, оказывая существенное влияние на организм. Ингредиенты пищевых веществ в ходе метаболизма, в результате сложных биохимических превращений преобразуются в структурные элементы клеток, которые обеспечивают организм человека пластическим материалом и энергией, создают необходимую умственную и физиологическую работоспособность, его способность к воспроизводству.

Продукты питания должны не только удовлетворять потребности человека в основных питательных веществах и энергии, но и выполнять профилактические и лечебные функции. Учитывая отмеченное, в настоящее время **актуальное** значение приобретают не только количественные, но и качественные показатели продуктов питания, в частности химический состав продуктов.

Цель работы заключалась в исследовании влияния биологически активной кормовой добавки «ДОСО» (ТУ 9365-001-00497182-2008) на качество мяса овец. В **задачи** исследования входила оценка эффективности

применения биологически активной кормовой добавки «ДОСО» на качественные показатели мяса в сравнении с контролем (ПДК), а также в сравнительном аспекте между животными, больными дистрофией и здоровыми.

Изучение проводили на овцах (валухи) из хозяйств Агинского округа Забайкальского края. Применение биологически активной кормовой добавки «ДОСО» (ТУ 9365-001-00497182-2008) для повышения качества мяса овец рассматривается впервые.

Для участия в исследовании были взяты овцы-валухи в возрасте 10-12 месяцев. Перед началом исследовательской работы было проведено взвешивание всех валухов, в зависимости от веса они были разделены на 2 опытные группы: овцы с дистрофией и здоровые.

В период исследования основной рацион кормления овец на 1 голову составлял: сено – 1,5 кг, сенаж – 1 кг, овес – 0,2 кг, травяная мука – 0,2 и вода. Кормление проводили 2 раза в день: утром и вечером, а днем они находились на подножном кормлении – паслись по сопкам, полям, лугам.

Контрольным группам овец при кормлении давали только основной рацион корма в течение 2 месяцев. Опытным группам овец при кормлении к основному рациону добавляли биологически активную кормовую добавку «ДОСО» по 0, 25 кг на одну голову, животных всех групп кормили в течение 2 месяцев.

Результаты количественного исследования химического состава мяса валухов представлены в таблице. Исследования проводились по группам после забоя животных.



Показатели химического состава мяса валухов по группам (n=30)

Группа	Макроэлементы, мг							Микроэлементы, мкг			
	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	S ⁺	P ⁺⁺	Cl ⁻	Fe ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Zn ⁺⁺
Общий контроль (ПДК)	329	9,8	25,1	101	165	168	83,6	2090	35	238	2820
Контрольная группа №1 валухи с дистрофией	287,0-289,0	7,1-7,9*	22,2-22,9	92,0-93,0	142,0-148,0	159,0-160,0	80,0-81,0	1800,0-1880,0	24,0-28,0	181,0-184,0	1810,0-1879,0
Опытная группа №1 валухи с дистрофией	309,0-323,0	8,9-9,7	24,2-25,0	98,0-99,0	159,0-162,0	160,0-166,0	82,0-86,0	1980,0-2000,0	30,0-33,0	200,0-220,0	2300,0-2780,0
Контрольная группа №2 валухи здоровые	311,0-320,0	8,5-9,3	23,9-24,5	97,0-98,0	157,0-161,0	160,0-164,0	81,0-85,0	1950,0-1990,0	31,0-32,0	198,0-221,0	2370,0-2700,0
Опытная группа №2 валухи здоровые	325,0-330,0	9,7-10,0	24,9-25,5	100,0-105,0	162,0-166,0	164,0-170,0	83,0-84,0	2000,0-2100,0	34,0-36,0	236,0-240,0	2800,0-2860,0

Примечание: * здесь и далее min - max.

Минимальное количество макро- и микроэлементов было выявлено в мясе валухов в контрольной группе с дистрофией, а максимальное количество зафиксировано у валухов опытной группы – здоровые, что несколько выше, чем в контрольной группе. Количество макро- и микроэлементов в мясе опытной группы овец с дистрофией выше, чем в контрольной группе овец – здоровые, но ниже, чем в мясе овец контрольной группы. Имеющееся расхождение связано с тем, что опытные группы валухов получали вместе с кормом биологически активную кормовую добавку «ДОСО».

Валухи контрольной группы, больные дистрофией, изначально имели меньшую массу, отмечалось угнетение общего состояния организма в связи с недостатком в корме макро- и микроэлементов, а также некоторых органических веществ и витаминов в течение всего периода исследования.

Валухи с дистрофией, входящие в опытную группу, при получении достаточного количества недостающих в организме веществ с «ДОСО» начали быстро развиваться, т.е. набирать в весе, соответственно качество мяса улучшилось с точки зрения химического состава. При потреблении овцами, больными дистрофией, биологически активной кормовой добавки «ДОСО» произошло направленное пополнение их организма микро-, макроэлементами, витаминами, органическими кислотами и т.д., что благотворно сказалось на организме животных, привело к прибавлению общей массы тела

и излечению от дистрофии. При этом во всех опытных группах количественный показатель химического состава мяса валухов был выше, чем в контрольных группах, однако показатели химического состава мяса валухов в опытных группах не превышали показатели ПДК.

Таким образом, исследования показали положительные изменения химического состава мяса, а также увеличение привеса овец при добавлении в корм биологически активной кормовой добавки «ДОСО» (ТУ 9365-001-00497182-2008). Следует полагать, что биологически активная кормовая добавка «ДОСО» при ее применении с кормовым рационом для животных имеет выраженный положительный эффект и соответственно может быть рекомендована в виде БАД для сельскохозяйственных животных в качестве лечебно-профилактического средства.

Список литературы

1. Нечаев А.П., Траубенберг С.Е., Кочеткова А.А. и др. // Пищевая химия / Под ред. Нечаева А.П. – Издание 3-е, испр. – СПб: ГИОРД, 2004, 640 с.

Контактная информация:

Кульрова Анна Валерьевна, 8(926)767-40-85



ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ ЖИВОТНОВОДСТВА В РЕЗУЛЬТАТЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЗАКВАСОК ДЛЯ СИЛОСОВАНИЯ

В статье представлены данные сравнительного изучения эффективности действия различных биологических заквасок, используемых при силосовании трав и кормовых культур.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: корма, силосные закваски, содержание и перевариваемость питательных веществ, лактобактерии.

V.G. KHAPUGIN, G.V. KOMOSKO, S.M. KUZNETSOV

SLL «Agrovet»

INCREASE OF EFFICIENCY ANIMAL INDUSTRIES AS A RESULT OF FERMENTS FOR SILOING

In article data of comparative studying of efficiency of action of the various biological ferments used at siloing of grasses and forage crops are presented.

KEYWORDS: forage, silage ferments, maintenance and digestibility of nutrients, lactobacillus.

Одной из актуальных проблем сельскохозяйственного производства в современных условиях является снижение себестоимости продукции животноводства и растениеводства.

Силос и сенаж являются важнейшими видами консервируемых кормов для осенне-зимнего содержания крупного рогатого скота. В структуре рациона они составляют до 65% питательного состава и для дойного стада являются основным источником поступления органических веществ, таких как углеводы, белки, витамины. Для продуктивного животноводства в Кировской области ежегодно заготавливается около 1 млн т силоса и 400 тыс. т сенажа. Однако получение доброкачественных объемистых кормов с обменной энергией не менее 12-13 МДж и содержанием сырого протеина 13-15% в кг сухого вещества остается для большинства хозяйств области проблемным. В то же время наличие кормов с такой энергетической питательностью позволяет получать от коровы до 20-22 кг молока в сутки без использования концентрированных кормов. По данным лабораторных анализов, в 2009 г. питательная ценность проверенных 448 тыс. т сочных кормов составляла от 02 до 03 кормовых единиц, из которых 10% отнесены к неклассным и более 25% – к III классу. Кроме того, естественные потери закладываемых кормов вследствие плохой трамбовки и укрытия, карамелизации сахаров, процесса гниения достигают 40% питательности. В них накапливаются плесени, токсины, масляная и уксусная кислоты, что делает их опасными для маточного поголовья, приплода и молодняка. С целью предотвращения массовых токсических заболеваний для нормализации обменных процессов, лечения токсикозов, кетозов ежегодно приобретается большое количество пищевой соды, мела, минеральных добавок, антиоксидантов. Подготовить

высококласный силос из богатых протеином бобовых культур гороха, клевера, люцерны, козлятника восточного, лядвенца рогатого традиционными технологиями практически невозможно. Главная причина в том, что «дикие» природные штаммы молочнокислых бактерий, находящиеся на растениях, гетероферментны и очень медленно, до 100 дней, накапливают молочную кислоту, чем удлиняют срок созревания силоса до 3-х месяцев. За этот период в силосуемой массе активно развиваются микроорганизмы, относящиеся к классу клостридий, которые быстро ферментируют молочную кислоту и превращают ее в масляную, расщепляют протеин до амидов и аммиака, что при употреблении корма приводит к серьезным, порой необратимым патогенетическим процессам в обмене веществ у животных.

Для устранения этих негативных явлений исследователями предложено множество средств и способов консервирования объемистых кормов, которые основаны на применении химических, биологических, комбинированных препаратов, полимерных материалов. Однако количество универсальных, высокоэффективных, дешевых и простых в применении препаратов до настоящего времени остается весьма ограниченным.

Для решения указанного вопроса специалистами ООО «Агровет» были отобраны новые биологические препараты, используемые для быстрого консервирования кормов и сделана сравнительная оценка их эффективности в производственных условиях на основании проведения балансовых опытов на животных. Результаты исследований представлены в таблице.

Результаты, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что наилучшие показатели были получены от применения силосной закваски нового поколения, разработанной специалистами ООО «Агровет» на осно-



Таблица

Содержание и перевариваемость питательных веществ в сухом веществе силосов при использовании разных заквасок (по данным ЛОС филиала ВИК и УралНИИСХ) за 2008-2009 гг.

Показатель	Используемые препараты				
	Контроль	Биолакт	Биотал	Биосиб	Биотроф
рН, ед. Рн	4,39	3,9	3,98	3,78	4,2
Сырая клетчатка, %	32,1	26,5	29,16	28,24	26,8
Сырой жир, %	3,95	4,37	3,95	4,24	4,18
Сырой протеин, %	11,33	14,63	12,94	13,41	14,45
БЭВ, %	46,14	66,01	46,29	47,05	62,10
Молочная кислота, %	45,0	67,57	58,0	64,4	63,10
Масляная кислота, %	0,09	0,05	0,01	0,03	0,07
Класс	3	1	1	1	1
Коэффициент переваримости протеина, %	51,76	59,06	52,16	58,12	58,16
Коэффициент переваримости клетчатки, %	60,60	66,76	61,44	64,29	65,12
Среднесуточный привес, г	666,0	761,0	523,0	714,0	722,0
Расход 1 л на количество тонн	-	50	20	15-20	18-20
Цена 1 л, руб.		200	1200	860	200
Затраты на обработку 1 т, руб.		4	60	43	10

ве оригинальных штаммов лактобактерий под названием «Биолакт», применение которой обеспечило затраты на обработку одной тонны силосуемой массы 4 рубля, что было в 2,5–15 раз меньше, чем при использовании других препаратов (биотал, биосиб, биотроф).

Высокая эффективность действия данного препарата связана с тем, что концентрация используемых лактобактерий (2×10^{10} живых клеток в 1 см³) позволяет сбрасывать сахара до молочной кислоты в течение первых 4-х суток, доводя кислотность до рН 3,9–4,1, что создает мощный защитный барьер, предотвращающий развитие микроорганизмов, приводящих к развитию гнилостных процессов. Универсальность действия подобранных штаммов заключается в том, что они накапливают в корме питательные вещества с пребиоти-

ческими свойствами, также препятствующие развитию гнилостных и болезнетворных микробов. Предлагаемые лактобактерии активно участвуют в процессах пищеварения, повышают конверсию корма и способствуют росту продуктивности животных, снижению затрат на сельскохозяйственную продукцию. Полученные результаты свидетельствуют о том, что резервы кормопроизводства и соответственно роста продуктивности животных в области есть, остается только приступить к практической реализации применения лактобацилл в процессе заготовки кормов.

Контактная информация:
Комоско Г.В., тел.: 8 (912) 8278924



ВЛИЯНИЕ МИРАМИСТИНА НА РАЗВИТИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ *E. COLI* O141, *S. CHOLERAЕ SUIIS* И *ST. AUREUS* К АНТИБИОТИКАМ

Авторами проведено исследование *in vitro* адаптации и реадaptации ряда микроорганизмов к антибиотикам энромагу и тилозину в сочетании с мирамистином – препаратом из группы поверхностно-активных веществ. Установлено, что мирамистин усиливает антибактериальную активность антибиотиков, снижает степень резистентности микроорганизмов к ним, ускоряет реверсию адаптированных культур в исходные штаммы, что позволяет рекомендовать такое сочетание препаратов в клинической практике.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мирамистин, поверхностно-активные вещества, антибиотики, лекарственная резистентность.

G.N. KUZMIN, A.M. SKOGOREVA, O.V. POPOVA

Voronezh state agrarian university

INFLUENCE MIRAMISTIN ON RESISTANCE DEVELOPMENT TO ANTIBIOTICS

In article results of studying of adaptation and reversion various microorganisms to antibiotics in a combination with miramistin are presented. It is established that application miramistin can lower some negative aspects of influence antibiotic therapy, is effective struggle with development medicine resistance and lower a medical dose of an antibiotic.

KEYWORDS: miramistin, surface-active substances, antibiotics, medicine resistance.

В течение последних десятилетий антибиотикоустойчивость микроорганизмов стала проблемой глобального масштаба. Широкое использование в медицине и ветеринарии химиопрепаратов привело к появлению большого количества мутагенных форм микроорганизмов с высокой лекарственной резистентностью, чему способствовало также длительное применение антибактериальных препаратов одного класса, использование низкоэффективных антибиотиков, несоблюдение дозировки и длительности курса лечения [1-3].

Создание синтетических поверхностно-активных веществ открыло новые возможности в борьбе с устойчивыми к лекарственным средствам штаммами микроорганизмов. Отдельные препараты из группы детергентов не только обладают выраженными антибактериальными свойствами, но и способны усиливать действие антибиотиков, что связано со способностью поверхностно-активных веществ взаимодействовать с гидрофобными компонентами клеточных мембран микроорганизмов, повышая их проницаемость для многих лекарственных средств [4, 5, 7]. При этом они оказывают местный и общий иммуномодулирующий эффект, основанный на изменении проницаемости цитоплазматических мембран лимфоидных клеток и усилении их метаболизма, а также повышении функциональной активности фагоцитов [6]. Использование таких препаратов в комплексе с антибактериальными средствами позволит ограничить формирование лекарственной резистентности и снизить иммунодепрессивное действие антибиотикотерапии. Одним из наиболее перспективных препаратов этой группы является мирамистин – отечественный антисептик, обладающий высокой активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий,

грибов, сложных вирусов и простейших, аэробной и анаэробной, спорообразующей и аспорогенной микрофлоры в виде монокультуры и микробных ассоциаций. Кроме того, он оказывает иммуностимулирующее действие, усиливает местные защитные реакции и регенераторные процессы вследствие стимуляции клеточного и гуморального иммунного ответа [4, 6].

Цель исследования – изучить *in vitro* влияние мирамистина в сочетании с антибиотиками на адаптационные и реверсивные свойства *Escherichia coli* O141, *Salmonella cholerae suis* и *Staphylococcus aureus*.

Методика исследований. В качестве опытных культур использовали патогенный штамм *Escherichia coli* O141 (выделен от больных телят из ООО «Ольшанка» Семилукского района Воронежской области), *Salmonella cholerae suis* и *Staphylococcus aureus* (выделены от больных поросят ЗАО «Родина» Россошанского района Воронежской области). Предварительно у этих микроорганизмов были изучены морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства. Из антибиотиков были выбраны тилозин (группа макролидов) и энромаг (фторхинолонового ряда).

Минимальную бактериостатическую и бактерицидную концентрации тилозина, энромага и их комбинаций с мирамистином выявляли методом серийных разведений в мясопептонном бульоне и мясопептонном агаре. В качестве контроля роста микроорганизмов использовали питательную среду, не содержащую антибактериальный препарат.

Испытания по изучению адаптации опытных культур к антибиотикам в сочетании с мирамистином проводили путем культивирования микроорганизмов на мясопептонном бульоне, содержащем возрастающие суббак-



териостатические концентрации тилозина и энромага в комбинации с мирамистином. Степень увеличения устойчивости микроорганизмов оценивали по коэффициенту резистентности – отношению конечной максимальной концентрации антибактериальных веществ, не препятствующей росту бактерий, к исходной.

Для определения стойкости приобретенной резистентности у испытываемых микроорганизмов было произведено пассирование полученных культур на мясопептонном бульоне, не содержащем антибактериальные препараты. Для всех опытных культур было проведено 70 пассажей.

Результаты исследований и их обсуждение.

Установлено, что минимальная бактериостатическая концентрация (МБСК) мирамистина составила для *E. coli* O141 и *S. cholerae suis* 15,6 мкг/мл, *St. aureus* – 7,8 мкг/мл. Энромаг задерживал рост эшерихии в концентрации 0,01 мкг/мл, сальмонеллы – 0,02 мкг/мл, стафилококка – 0,05 мкг/мл.

Сочетание энромага с мирамистином проявило бактериостатическую активность в отношении культуры кишечной палочки в концентрации 0,005 мкг/мл, сальмонеллы – 0,01 мкг/мл, стафилококка – 0,05 мкг/мл. МБСК тилозина составила 612,5 мкг/мл для всех трех культур, тилозина в комбинации с мирамистином – 156,25 мкг/мл для *E. coli* O141 и *St. aureus* и 312,5 мкг/мл для *S. cholerae suis*. Таким образом, мирамистин повышал антибактериальную активность энромага в отношении эшерихии и сальмонеллы в 2 раза, тилозина – в 4 раза для эшерихии и стафилококка и в 2 раза для сальмонеллы. Сочетание энромага с мирамистином в отношении стафилококка оказалось неэффективным.

Проведенными исследованиями установлено некоторое повышение устойчивости опытных культур к мирамистину и его комбинациям с антибиотиками в процессе последовательных пассажей на питательных средах, содержащих возрастающие концентрации испытуемых препаратов.

МБСК мирамистина повысилась в отношении культуры *E. coli* O141 с 15,6 до 125 мкг/мл к 30 пассажу (коэффициент резистентности составил при этом 8), в отношении *S. cholerae suis* – с 15,6 до 62,5 мкг/мл к 40 пересеву (коэффициент резистентности 4) и *St. aureus* – с 7,8 до 31,25 мкг/мл также к 40 пассажу (коэффициент резистентности 4).

При культивировании микроорганизмов на средах, содержащих возрастающие концентрации энромага, МБСК последнего увеличилась для эшерихии с 0,01 до 0,1 мкг/мл к 20 пассажу и оставалась на этом уровне до 40 пересева (коэффициент резистентности равен 10). Повышение минимальной подавляющей рост концентрации энромага в отношении сальмонеллы с 0,02 до 0,1 мкг/мл произошло к 30 пассажу и оставалось на этом уровне до 40 пересева (коэффициент резистентности 5). Для стафилококка МБСК выросла с 0,05 до 0,2 мкг/мл к 20 пассажу (коэффициент резистентности 4) и держалась на этом уровне до 30 пересева.

МБСК энромага в сочетании с мирамистином увеличилась: в отношении *E. coli* O 141 с 0,005 до 0,02 мкг/мл к 40 пассажу (коэффициент резистентности 4), *S. cholerae suis* – с 0,01 до 0,04 мкг/мл к 30 пассажу (ко-

эффициент резистентности 4), *St. aureus* – с 0,05 до 0,1 мкг/мл к 20 пассажу (коэффициент резистентности 2).

Минимальная подавляющая рост концентрация тилозина в отношении культур кишечной палочки и стафилококка выросла с 312,5 до 2500 мкг/мл к 30 пассажу (коэффициент резистентности 8) и оставалась на этом уровне в течение еще 10 пассажей. Для сальмонеллы эта концентрация также увеличилась с 312,5 до 2500 мкг/мл (коэффициент резистентности 8) к 20 пересеву и держалась на этом уровне до 40 пересева.

МБСК комбинации тилозин+мирамистин при культивировании *E. coli* O141 и *St. aureus* повысилась с 156,25 до 1250 мкг/мл к 40 и 30 пассажу соответственно (коэффициент резистентности 8), *S. cholerae suis* – с 312,5 до 1250 мкг/мл к 30 пассажу (коэффициент резистентности 4).

Таким образом, в процессе адаптации культур к возрастающим концентрациям антибиотиков их чувствительность понижалась. Однако комбинация химиотерапевтических препаратов с мирамистином позволяет уменьшить степень приобретенной устойчивости микроорганизмов. Так, при сочетании энромага с мирамистином его коэффициент резистентности для *E. coli* O141 снижается в 2,5 раза, *S. cholerae suis* – 1,25 раза, *St. aureus* – 2 раза. Мирамистин также уменьшал коэффициент резистентности тилозина в отношении сальмонеллы в 2 раза. Для эшерихии и стафилококка синергидный эффект оказался индифферентным.

Минимальная подавляющая рост концентрация мирамистина для *E. coli* O141 снизилась с 125 мкг/мл до исходной концентрации 15,6 мкг/мл к 20 пересеву на питательные среды, не содержащие антибактериальных препаратов, для *S. cholerae suis* – с 62,5 до 15,6 мкг/мл к 10 пассажу, для *St. aureus* – с 31,25 до 7,8 мкг/мл к 10 дню пересевов.

МБСК энромага для стафилококка снизилась с 0,2 мкг/мл до исходной концентрации 0,05 мкг/мл к 20 пересеву. В отношении кишечной палочки и сальмонеллы концентрация энромага к 70 пассажу не вернулась к исходным значениям.

МБСК комбинации энромаг+мирамистин для эшерихии снизилась с 0,02 до 0,005 мкг/мл к 10 дню пересевов, для сальмонеллы – с 0,04 до 0,01 к 10 пассажу, стафилококка – с 0,1 до 0,05 мкг/мл к 10 пассажу.

Снижения минимальной подавляющей рост концентрации тилозина для всех опытных культур до исходных значений к 70 пассажу не произошло.

При сочетании тилозина с мирамистином МБСК в отношении эшерихии снизилась с 1250 до 156,25 мкг/мл к 10 пересеву, сальмонеллы – с 1250 до 312,5 мкг/мл к 20 пассажу, стафилококка – с 1250 до 156,25 мкг/мл к 20 пассажу.

Выводы. Сочетанное применение мирамистина с антибиотиками энромагом и тилозином усиливает их антибактериальное действие в отношении культур *Escherichia coli*, *Salmonella cholerae suis* и *Staphylococcus aureus*. Резистентные культуры микроорганизмов под действием комбинаций мирамистина с антибиотиками к 10-20 пассажу реверсируют в исходные штаммы. Применение мирамистина в дозе 1,5 мл/кг живой массы при энтеробактериозах (эшерихиоз, сальмонеллез) по-



Микробиология

продолжает предупреждать развитие антибиотикорезистентности у патогенной микрофлоры, что актуально для клинической практики.

Список литературы

1. *Афонюшкин, В.Н.* Антибиотикорезистентность сальмонелл в Сибири / В.Н. Афонюшкин, Е.К. Дударева, Л.И. Малахеева и др. // Ветеринария, 2008, № 1. – С. 7-8.
2. *Волков, П.* Антибиотикорезистентность и пути ее решения / П. Волков // Ветеринарная медицина домашних животных и пути ее решения: Сб. статей. – Казань, 2007. – Вып. 4. – С. 10-14.
3. *Иванов, А.С.* Современные представления об антибиотикорезистентности и антибактериальной терапии сальмонеллезов / А.С. Иванов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2009, № 4(11). – С. 6-9.
4. *Кривошеин, Ю.С.* Мирамистин – отечественный антисептик широкого спектра действия / Ю.С. Кривошеин: Тез. докл. 1-й межд. конф. «Клинические исследования лекарственных средств». – М., 2001. – С. 29-30.
5. *Кузьмин, Г.Н.* Применение мирамистина при энтеробактериозах поросят / Г.Н. Кузьмин, В.В. Свистов, А.М. Скогорева, Т.В. Пояркова: Монография. – Воронеж, 2006, 126 с.
6. *Шатров, В.А.* Иммуноадьювантные свойства новых антимикробных синтетических поверхностно-активных веществ / В.А. Шатров: Автореф. ... докт. мед. наук. – Киев, 1992, 34 с.
7. *Павлова, Н.В.* Мікробіологічне обґрунтування поєднаного застосування мірамістину й антибіотиків при стафілококовій раневій інфекції / Н.В. Павлова: Автореф. ... канд. мед. наук. – Харків, 2000, 16 с.

Контактная информация:
Скогорева А.М., annaskogoreva@mail.ru

Онкология

УДК 619:616.19-006.6-08-059:636.8

М.Н. ЯКУНИНА, Е.М. ТРЕЩАЛИНА

Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина Российской академии медицинских наук

А.А. ШИМШИРТ

ООО «Ветеринарная клиника «Биоконтроль», г.Москва

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПЕРЕНОСИМОСТЬ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ (АДЬЮВАНТНОЙ) ХИМИОТЕРАПИИ ДОКСОРУБИЦИНОМ ИЛИ ТАКСОТЕРОМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КОШЕК

Результаты адьювантной химиотерапии (ХТ) доксорубицином и таксотером в монорежиме при РМЖ III стадии кошек (n=38) показали, что препараты близки по эффективности. Таксотер (n=11) в сравнении с доксорубицином (n=27) дает более длительный отдаленный эффект по медиане времени до прогрессирования (ВДП=11,3 против 8,3 мес.) и по медиане продолжительности жизни (МПЖ=11,7 против 8,7 мес.) при усилении побочных эффектов в виде аллергической реакции и анорексии в 37% случаев.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак молочной железы кошек, адьювантная химиотерапия, таксотер, доксорубицин.

M. YAKUNINA, N. TRESHALINA

Russian Cancer Research Center of RAMS named N.N. Blohin

A. SHIMSHYRT

SLL "Veterinary clinic "Biocontrol"

EFFICACY AND TOLERANCE OF POSTOPERATIVE (ADJUVANT) CHEMOTHERAPY WITH DOXORUBICIN OR TAXOTER AGAINST BREAST CANCER IN CATS

There are results of the investigation of adjuvant chemotherapy with doxorubicin or taxoter alone against operative breast cancer III stage in the 36 cats. It was shown that both drugs are similar by the anticancer efficacy. Taxoter (n=11) in comparison with doxorubicin (n=27) led to more longer effect with the increasing of time to tumor progressive (TTP=11,3 against 8,3 month) and life span median (LSM=11,7 against 8,7 month) with increasing of such side effects as allergic reactions or anorexia at the same time up to cases of 37%.

KEYWORDS: feline mammary carcinoma, adjuvant chemotherapy, doxorubicin, taxoter.

Опухоли молочной железы (ОМЖ) у кошек занимают 3-е место после лимфом и опухолей кожи, а на долю рака молочной железы (РМЖ) приходится 86-90% всех случаев ОМЖ. Заболевание рецидивирующее, крайне агрессивное, характеризуется ранним полиорганным лимфогенным и гематогенным метастазированием и, соответственно, неблагоприятным прогнозом [8]. Субклинические метастазы могут присутствовать уже на

ранних этапах развития заболевания. Это определяет комплексный подход к лечению, включающему оперативное вмешательство и химиотерапию, направленную на предупреждение ранних и отдаленных проявлений опухолевого процесса. В онковетеринарии аналогично медицинской онкологии при РМЖ у животных, особенно у кошек, антрациклины [5] в послеоперационном (адьювантном) периоде считаются препаратами выбора. Так,



при РМЖ у кошек (n=140) адьювантная химиотерапия доксорубицином в зависимости от размера первичного опухолевого узла и регионарного метастазирования позволяет продлить среднюю продолжительность жизни в 1,5 раза (от 14,4 до 22,8 мес.), а продолжительность безрецидивного периода – в 1,6 раз (от 7,2 до 12 мес.). В ветеринарии сведения об эффективности таксоидов носят единичный характер [7], а в медицине они считаются препаратом выбора наравне с антрациклинами [1-4]. Сравнить эффективность и переносимость животными препаратов из этих групп не представляется возможным из-за крайне скудных публикаций на эту тему. Тем не менее, такое сравнение позволит выбрать более эффективный и менее токсичный препарат, что необходимо для 1-й линии многоциклового лечения. Соответственно сформулирована цель настоящего исследования.

Целью исследования являлось изучение эффективности адьювантной химиотерапии РМЖ III стадии у кошек с использованием доксорубицина или таксотера.

Для этого необходимо было выполнить следующее: отобрать оперированных кошек с РМЖ III стадии; провести адьювантную химиотерапию доксорубицином; провести адьювантную химиотерапию таксотером; оценить эффективность и переносимость адьювантной химиотерапии доксорубицином или таксотером при лечении кошек с РМЖ III стадии.

Материалы и методы. Исследование выполнено у 38 кошек (33 самки и 4 самца) с ОМЖ, которых наблюдали в клинике экспериментальной терапии НИИ КО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН и в ветеринарной клинике «Биоконтроль» (г. Москва). Возраст кошек составил 8-16 лет (средний возраст 12,6 лет), 10 кошек были стерилизованы в первые годы жизни, 28 кошек не подверглись стерилизации. Для диагностики РМЖ все кошки прошли полное клиническое обследование: осмотр, пальпация, аускультация, УЗИ и рентгенодиагностика отдельных органов для выявления отдаленного метастазирования. После постановки диагноза РМЖ всем кошкам выполнена унилатеральная мастэктомия, затем диагноз был верифицирован по результатам патоморфологического исследования операционного материала. Стадию процесса определяли в соответствии с международной классификацией TNM (Owen, 1980).

В исследовании было 2 группы оперированных кошек с РМЖ III стадии: группа Таксотера (n=11) – кошки получали системную химиотерапию таксотером; группа Доксорубицина (n=27) – кошки получали системную химиотерапию доксорубицином.

Лечение проводили по следующей схеме: таксотер (**Авентис, Великобритания**) во флаконах по 20 мг вводили животным в разовой дозе (РД) 20 мг/м² [9] внутривенно капельно в течение 30 мин. в 100 мл физиологического раствора. Доксорубицин (Тева, Израиль) во флаконах по 10 мг вводили животным в РД 20 мг/м² внутривенно капельно в течение 30 мин. в 100 мл физиологического раствора. Премедикация включала преднизолон, супрастин, церукал внутримышечно в рекомендованных дозах. Лечение выполняли в период с 5-го по 10-й день после мастэктомии. Всего проведено по 3 цикла лечения с интервалом 21 день.

Оценка результатов лечения проведена на основании стандартных показателей эффективности: медианы времени до прогрессирования (ВДП), медианы продолжительности жизни (МПЖ) животных в течение 1, 3, 6 и 12 месяцев и 3-х лет от начала лечения. Для вычисления показателей использовали данные клинического осмотра и визуальных методов обследования, а также результаты опроса владельцев животных.

Группа Доксорубицина (n=27): ВДП=8,3 мес., при этом 24 животных (90%) не имели признаков рецидива в течение первых 3-х месяцев, 9 кошек (33%) – в течение 1 года, а 4 кошки (14,3%) – по истечении 3 лет после лечения. МПЖ=8,7 мес., при этом 18 из 27 кошек (68%) прожили 6 мес., 11 кошек (42%) – 1 год, а 4 кошки (13%) оставались живыми 3 года после проведенного лечения (табл. 1, 2).

Группа Таксотера (n=11): ВДП=11,3 мес., при этом 10 кошек (89%) не имели признаков рецидива в течение первых 3-х месяцев, 7 кошек (67%) – в течение 6 мес. и 3 кошки (28%) – в течение 1-го года. МПЖ=11,7 мес., при этом 11 кошек (89%) прожили 6 мес., а 5 кошек (43%) были живы в течение 1-го года от начала лечения (табл. 3, 4).

Таблица 1

Показатели выживаемости кошек с РМЖ III ст., получавших доксорубицин в адьювантном периоде

Срок жизни, мес.	Животные, %	
	Без прогрессирования	Выжившие
1	97 ± 0,03	100 ± 0,01
3	90 ± 0,05	90 ± 0,05
6	69 ± 0,08	68 ± 0,08
12	33 ± 0,09	42 ± 0,1
20	29 ± 0,07	37 ± 0,09
36	14 ± 0,07	13 ± 0,8

Таблица 2

Медианы продолжительности жизни и времени до прогрессирования кошек с РМЖ III ст., получавших доксорубицин в адьювантном периоде

Средний показатель, мес.	МПЖ	МВП
	8,7	8,3

Таблица 3

Показатели выживаемости кошек с РМЖ III ст., получавших таксотер в адьювантном периоде

Срок наблюдения, мес.	Животные, %	
	Без прогрессирования	Выжившие
1	100	100
3	89 ± 11,7	95 ± 11,7
6	67 ± 17,1	89 ± 17,1
12	28 ± 17,5	43 ± 17,7



Медианы продолжительности жизни и времени до прогрессирования кошек с РМЖ III ст., получавших доксорубицин в адъювантном периоде

Средние показатели (мес.)	МПЖ	МВП
	11,7	11,3

Переносимость лечения. В группе Доксорубицина непосредственных осложнений не отмечено. В группе Таксотера у 4-х из 11 кошек (36,3%) сразу после на-

чала введения отмечали аллергическую реакцию. Из отдаленных осложнений выявлена анорексия умеренная у 2 кошек (18%) и полный отказ от корма, потребовавший медикаментозной коррекции, у 2 кошек (18%). Незначительные отклонения в биохимических показателях крови (табл. 5), которые были расценены как следствие хронической гепатопатии в анамнезе, отмечены у 3-х кошек (27%) и были откорректированы симптоматически. Гематологические показатели оставались в пределах нормы.

Таблица 5

Динамика биохимических и клинических показателей крови кошек с РМЖ III ст. на фоне химиотерапии таксотером

Показатель	Перед химиотерапией	После лечения		
		1 курс	2 курс	3 курс
АЛТ	44,0±25,2	51,0±20,6	53,7±30,0	31,4±18,0
Креатинин	113,2±41,3	137,6±43,3	139,7±44,0	120,2±55,0
Панк. амилаза	1069,9±437,1	1011,5±402,8	1164,0±791,0	1012,2±617,0
Лейкоциты	11,4±6,5	11,2±6,0	13,9±8,6	10,5±5,3
Гемоглобин	11,7±1,8	11,4±1,2	10,9±1,7	10,0±2,0
Эритроциты	8,5±1,5	8,7±1,1	8,3±1,3	7,2±0,9
Тромбоциты	353,0±193,0	296,0±159,0	371,0±71,0	478,5±250,0

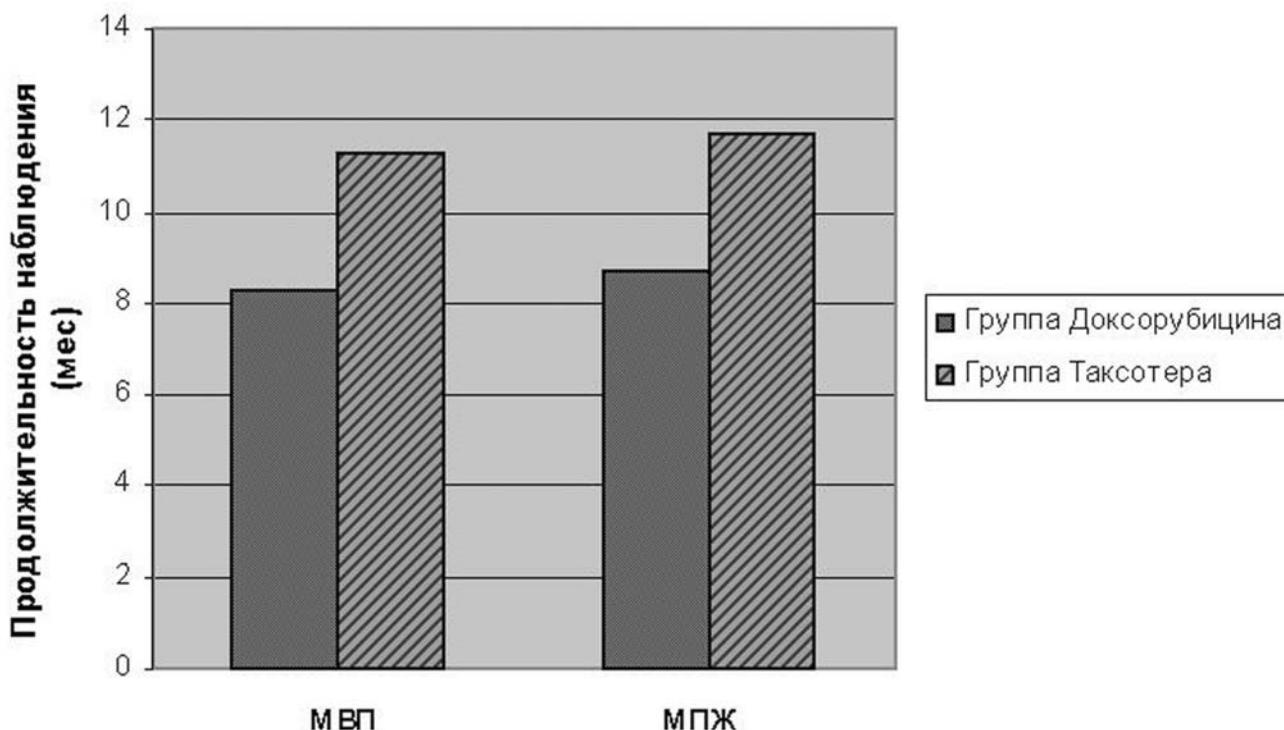


Рис. Сравнительная эффективность адъювантной химиотерапии с доксорубицином или таксотером кошек с РМЖ III стадии



Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что таксотер и доксорубин близки по эффективности при проведении адьювантной химиотерапии кошек с РМЖ III ст. Более длительный отдаленный эффект дает химиотерапия таксотером как по медиане времени до прогрессирования (ВДП=11,3 против 8,3 мес.), так и по медиане продолжительности жизни (МПЖ=11,7 против 8,7 мес.) (рис.). Наряду с увеличением выживаемости на фоне замедления прогрессирования заболевания отмечено более выраженное проявление характерных для таксотера аллергической реакции и анорексии, хотя частота тяжелых осложнений в виде полной анорексии составила 18%, а частота остальных не превышала 37%.

Полученные данные согласуются с единичными данными литературы, в которых описаны результаты адьювантной химиотерапии доксорубицином и таксотером РМЖ III ст. у животных, а также выявлено незначительное различие в выживаемости пациентов при удовлетворительной переносимости лечения [7]. В сравнении с историческим опытом лечения доксорубицином при данной патологии полученные данные хуже по длительности безрецидивного периода (8,3-8,7 против 12 мес.), но сравнимы по продолжительностью жизни (медиана 11,3-11,8 против выживаемости 22,8 мес.) [7]. Сравнительный анализ эффективности таксотера не проведен из-за отсутствия соответствующих публикаций.

Результаты настоящего исследования позволяют считать, что доксорубин и таксотер перспективны для адьювантной химиотерапии РМЖ III ст. у кошек. Учитывая близость биологических характеристик РМЖ кошек и человека и чувствительность этой патологии у кошек к химиотерапии, целесообразно изучить возможность повышения эффективности адьювантного лечения путем комбинации этих цитостатиков. Наличие побочных эффектов на таксотер вплоть до выраженных

определяет обязательную премедикацию кортикостероидными, антигистаминными препаратами и антиэметиками.

Список литературы

1. *Переводчикова Н.И.* Место химиотерапии в системе лечения онкологических больных и выбор терапевтической тактики // Современная онкология, 2001. – Т. 3, №2. – www.consilium-medicum.com
2. *Семиглазов В.Ф.* Адьювантная химиотерапия рака молочной железы: IV российская онкологическая конференция. – М., 2000.
3. *Тюляндин С.А.* Системная химиотерапия операбельного рака молочной желез // Практическая онкология, 2002. – Т. 3, №1. – С. 29-37.
4. *Henderson I.C., Berry D., Demetri G. et al.* Improved disease-free (DFS) and overall survival (OS) from the addition of sequential paclitaxel (T) but not from the escalation of doxorubicin (A) dose level in the adjuvant chemotherapy of patients (pts) with node-positive primary breast cancer (BC) // Proc. ASCO, 1998. – V. 17. – P. 101a (abstr. 390A).
5. *McNeill C.J., Sorenmo K.U., Shofer F.S. et al.* Evaluation of adjuvant Doxorubicin-based chemotherapy for the treatment of feline mammary carcinoma // J. Vet. Intern. Med., 2009. – V. 23. – P. 123-129.
6. *Novosad C.A., Bergman P.J., O'Brien M.G.* Retrospective evaluation of adjunctive doxorubicin for the treatment of feline mammary gland adenocarcinoma: 67 cases // J. Am. Anim. Hosp. Assoc., 2006. – V. 42, №2. – P. 10-20.
7. *Simon D., Schoenrock D.* Postoperative adjuvant treatment of invasive docetaxel mammary gland tumors in dogs with doxorubicin and docetaxel // J. Vet. Intern. Med., 2006. – V. 20, №5. – P. 1184-1190.
8. *Viste J.R., Myers S.L., Singh B., et al.* Feline mammary adenocarcinoma: Tumor size as a prognostic indicator // Can. Vet. J., 2002. – V. 43. – P. 33-37.
9. *Morris J., Dobson J.* Small animal oncology // Blackwell Science, 2001. – P. 314.

Контактная информация:
Трещалина Елена Михайловна,
тел.: 8 (495) 324-14-09

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

ИЗМЕНЕНИЯ КАРТИНЫ ГЛАЗНОГО ДНА ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ АТРОФИИ СЕТЧАТКИ

В статье приводится детальное описание глазного дна в норме и при генерализованной прогрессирующей атрофии сетчатки у собак.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: глазное дно, ретинофотография, атрофия сетчатки, собаки.

E. DEPTA

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

ANATOMICAL LESIONS ON THE FUNDUS IN GENERALIZED PROGRESSIVE RETINAL ATROPHY IN DOGS

This article describe the normal dog's fundus and anatomical lesions which we can often see in medium and later stage of generalized progressive atrophy in dogs.

KEYWORDS: fundus, retinophotography, retinal atrophy, dogs.

Для того чтобы увидеть любые патологические изменения на глазном дне, каждому практикующему офтальмологу необходимо детально изучить глазное дно здоровой собаки. Вид нормального глазного дна зависит от вида животного, возраста, шерстного покрова (короткий, длинный) и пигментации. На глазном дне выделяем: тапетум люцидум, тапетум нигрум, диск зрительного нерва, вены и артерии.

Материалы и методы исследования. Нами проведено исследование глазного дна, с помощью офтальмологической прямой фундускамеры (Kowa GENESIS Kowa company Ltd, Япония) 40 собак, из которых 20 здоровых (глазное дно без каких-либо изменений) и 20 с диагнозом прогрессирующая атрофия сетчатки.

Отражательная пластинка tapetum lucidum располагается между сосудисто-капиллярной пластинкой и сосудистым слоем и состоит из слоев специализированных отражательных клеток (кристаллы гуаниннуклеотида пуринового ряда в чистом виде и в форме кальциевых солей), у собак их до 15. Цитоплазма отражательных клеток заполнена палочковидными структурами, которые у собак содержат большое количество цинка.

У взрослых собак тапетум окрашен в светлые цвета, напоминает неравносторонний треугольник (рис. 1) с правильным углом в вершине и острым углом, расположенным назально. Его функция заключается в сборании света в тусклым освещении и его отражение назад к сетчатке.

Тапетум является частью собственной сосудистой оболочки и развивается после рождения. Таким образом, окраска характерна для взрослых животных и не может присутствовать до 10-12-недельного возраста.

Отсутствие видимого тапетума является его разновидностью и наиболее часто встречается у животных с синей радужкой или у альбиносов.

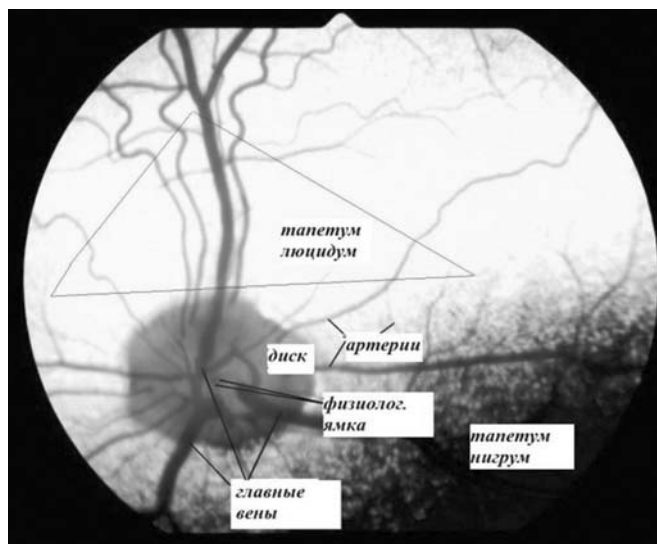


Рис. 1. Глазное дно собаки в норме

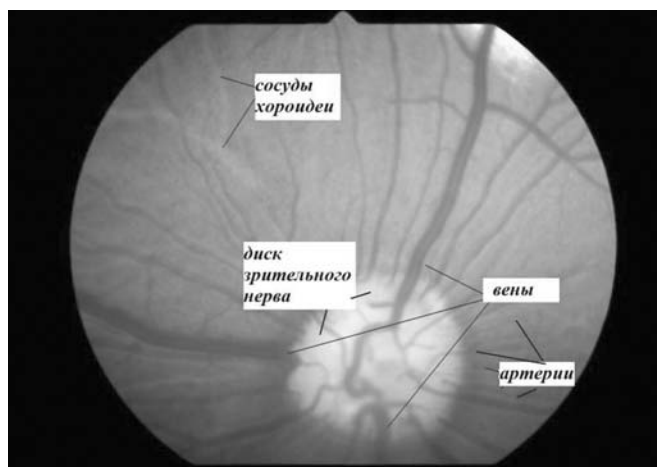


Рис. 2. Глазное дно собаки-альбиноса



Глаза альбиноса характеризуются недостатком пигмента в сетчатке и хориоидеи (рис. 2).

Размер тапетума связан напрямую с размером собаки: большие собаки имеют относительно большой тапетум и с оптическим диском, находящимся в его пределах, а мелкие породы имеют маленький тапетум, обычно с диском вне. Переход тапетума в нетапетальную часть резкий у короткошерстных собак, так как у длинношерстных собак выделяется переходная зона.

Оптический диск или сосочек зрительного нерва у собак обычно миелинизированный. Диск собаки имеет разнообразные формы, цветовые гаммы и даже разное количество миелина у разных животных. Большое количество миелина может встречаться у собак крупных пород в виде возвышения диска или оправы диска. Избыточный миелин может также придавать диску белый цвет вместо розовато-белого. Миелин имеет тенденцию располагаться за большими кровеносными сосудами на диске и это может придавать ему треугольную форму.

Маленькое темное пятно, физиологическая ямка (впадина), наблюдается в центре некоторых дисков, она является остатком эмбриональной стекловидной артерии.

Самые большие сосуды – вены (количество 2-5). У собак три основные вены в области зрительного соска формируют открытую по направлению к виску венозную дугу, в которую впадают промежуточные вены, а также некоторые венулы (вторичные вены). От венозной дуги кровь идет через короткие задние ресничные вены (v. ciliares posteriores breves) в наружную глазную вену (v. ophthalmica externa).

Поступление крови от а. Ophthalmica externa осуществляется через задние короткие ресничные вены. Они формируют сосудистый круг Цинна (circulus arteriosus nervi optici), от которого отходят артерии, снабжающие сетчатку. Диаметр этих артерии соответствует 1/4 диаметра основных вен. Артерии – до 20 (но обычно 10-12), маленькие выходят из края оптического нерва (не соска, из-за миелина). Артерии не соединены с веной, как у некоторых видов животных. Вторичные вены имеют тот же самый размер, как артерии, но отходят от дуги анастомоза.

Извилистость судов, их размер и количество изменяются с возрастом, а также различаются среди разных пород собак.

Вентральную область тапетума называют тапетум нигрум. Тапетум нигрум у большинства собак имеет довольно плотный пигментный эпителий, который в свою очередь затеняет визуализацию хориоидеи и склеры. Область вокруг сосочка зрительного нерва часто может иметь беспигментные участки и глыбки. Собаки с красновато-коричневой шерстью часто имеют меньшее количество пигмента в нетапетальной области.

Результаты исследования. Начальную стадию генерализованной прогрессирующей атрофии сетчатки можно диагностировать только с помощью электроретинографии и генетических тестов, так как на глазном дне не выявляются явно заметные изменения.

На средней стадии выявляются незначительные демаркационные изменения окраски тапетума, что

выражается в чередовании здоровых и пораженных участков тапетума. Сосудистая сеть в этих случаях значительно ослаблена, особенно на периферии (рис. 3). Гиперрефлекторность зависит от освещения. Так, при прямой офтальмоскопии она визуализируется от неотчетливой до ярко выраженной. Изменения диска зрительного нерва выражены слабо, но можно увидеть его побледнение, диск приобретает беловато-серый цвет.

На поздней стадии генерализованной прогрессирующей атрофии сетчатки характерным является увеличение отражательной способности тапетума (гиперрефлекторность), из-за чего глаза кажутся «серебристыми» или «желтыми».

Сосудистый рисунок ослабевает, сосуды сетчатки постепенно укорачиваются, остаются только магистральные сосуды, которые со временем спадают, оставляя следовые ходы. Истончение сосудов сетчатки связано с истощением сетчатки. В некоторых случаях визуализируются сосуды хориоидеи.

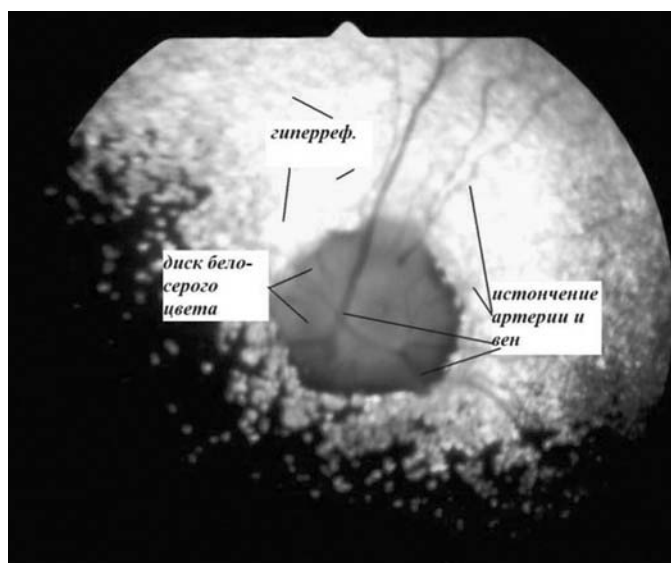


Рис. 3. Картина глазного дна собаки со средней стадией генерализованной прогрессирующей атрофией сетчатки

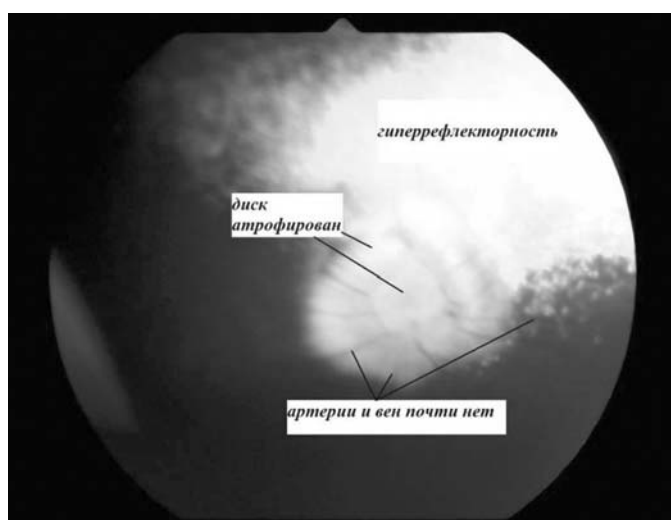


Рис. 4. Атрофия диска зрительного нерва и почти полное исчезновение сосудов

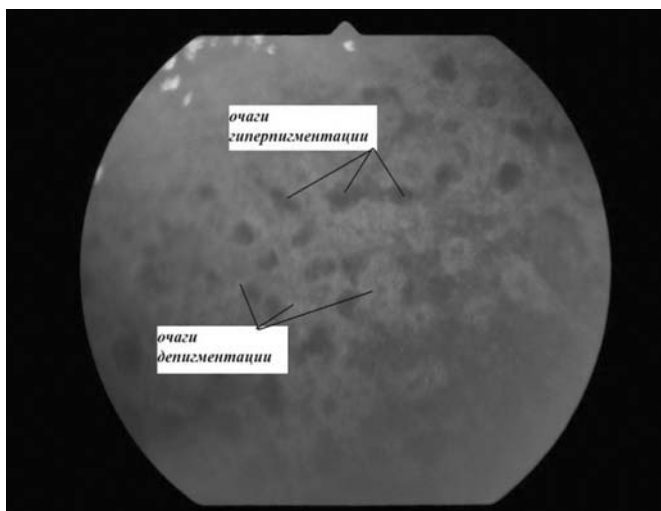


Рис. 5. Очаги гипер- и депигментации на нетапетальной части глазного дна

Все изменения сосудов приводят к атрофическим и дегенеративным изменениям диска зрительного нерва (рис. 4). Они проявляются в виде побледнения диска зрительного нерва, диск становится полностью белым.

На нетапетальной части сетчатки визуализируются пигментные участки в виде глыбок темно-коричневого цвета (рис. 5).

Выводы. Фундускопия является очень ценным методом исследования и оценки глазного дна. Она позволяет получать и сохранять панорамную картину глазного дна животного с возможностью выведения ее на большой экран, благодаря чему можно детально рассмотреть каждый участок глазного дна.

*Контактная информация:
Депта Эвелина deptunia@mail.ru*

УДК 619.617.7:636.7(06)

Э. ДЕПТА

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

РОЛЬ ЭЛЕКТРОРЕТИНОГРАФИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ АТРОФИИ СЕТЧАТКИ У СОБАК

В статье приводятся данные реализации метода электроретинографического исследования при диагностике генерализованной прогрессирующей атрофии сетчатки у собак.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: электроретинографическое исследование, атрофия сетчатки, собаки.

Е. ДЕПТА

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

ROLE ELECTRORETINOGRAPHY INVESTIGATIONS IN DIAGNOSIS MEDIUM STAGE OF GENERALIZED PROGRESSIVE RETINAL ATROPHY IN DOGS

This article show essence and methods realization of electroretinography investigations in diagnosis medium stage of generalized progressive retinal atrophy in dogs.

KEYWORDS: electroretinography investigations, retinal atrophy, dogs.

Генерализованная прогрессирующая атрофия сетчатки (GPRA generalized progressive retinal atrophy) – это дегенерации сетчатки, при которой первичным очагом заболевания являются фоторецепторы. Заболевание, как правило, симметричное. Встречается заболевание у таких пород, как йоркширский терьер, карликовый шнауцер, коккер-спаниель (американский и английский), колли, лабрадор ретривер, пудели, ротвейлер, такса, ши тцу, джек-рассел терьер и др. Такие дегенерации характеризуются «куриной слепотой», которая прогрессирует до полной слепоты и способствует образованию вторичной катаракты. Все эти заболевания наследуются по простым аутосомно-рецессивным признакам.

Одним из главных методов исследования является электроретинография. Электроретинография – это регистрация многофазной биоэлектрической реакции клеточных элементов сетчатки в ответ на световой раздражитель. Она проводится в тех случаях, когда предполагается наличие заболевания сетчатки связанных с нарушением функции зрения.

Материалы и методы исследования. Нами проведено электроретинографическое исследование сетчатки собак с диагнозом генерализованная прогрессирующая атрофия сетчатки (30 собак). Исследовались электрические импульсы, генерируемые возбужденными фоторецепторами. Импульсы фиксировались электроретинографом RETIport ERG Laptop Version Acri/Tec.



Исследуемую собаку помещали в темную комнату на 20 минут (для темновой адаптации). Для обезболивания конъюнктивы роговицы использовали 0,5%-ный алкаин. Для расширения зрачка применяли мидрум. Для проведения исследований использовали три электрода: два пассивных и один активный. Пассивные электроды ставили под кожу в области наружного угла глаза и среднего гребня затылочной кости. Активный электрод с контактной линзой и со вспышкой на присоске фиксировали на поверхности роговицы.

Стоит отметить, что активный электрод представляет собой световое устройство, производящее световое раздражение сетчатки, в результате чего прибор определяет разность потенциалов между активным и пассивным электродом. После произведенной вспышки происходит возбуждение фоторецепторов. Возбужденные фоторецепторы генерируют электрические импульсы, которые фиксируются прибором.

Изучение функций фотопической (колбочковой) и скотопической (палочковой) систем основывалось на различии физиологических свойств колбочек и палочек сетчатки, поэтому для их регистрации использовались соответствующие условия, в которых доминирует каждая из этих систем. При этом учитывалось, что колбочки более чувствительны к ярким красным стимулам (фотопические условия освещения, частота мелькания свыше 20 Гц). Палочки же более чувствительны к слабым ахроматическим или синим стимулам (частота мелькания до 20 Гц).

Полученные данные выводились прибором на координатную плоскость в виде кривой. По оси абсцисс отмечалось время в миллисекундах, а по оси ординат – суммарное число в микровольтах. В полученной кривой нами выделялись три основные волны (рис. 1), одна из которых «а» (или RIII) – негативная, характеризовала функциональное состояние нейрорецепторного аппарата сетчатки. В ней выделяли два компонента быстрый дистальный и медленный поздний рецепторный потенциал. (Предполагается, что быстрый компонент генерируется фоторецепторами, а медленный – клетками Мюллера.) Позитивная волна «b» (корнеопозитивный RII-компонент) образовывалась вследствие деполяризации и гиперполяризации глиальных клеток сетчатки и отражала функциональное состояние второго нейрона сетчатки. Это трансретинальный потенциал, возникающий в результате светоиндуцированного увеличения ионов калия во внутренних и наружных плексиформных слоях.

Корнеопозитивный RI, или «с»-волна, отражал функцию пигментного эпителия.

Для детального изучения функции колбочек применяли как единичные вспышки, так и на мелькающий стимул в 30 Гц. «а»-Волну оценивали от базовой линии до пика, амплитуду «b»-волны измеряли от пика «а»-волны до пика «b»-волны, а время кульминации «b»-волны (implicit time) измерялось от времени вспышки до пика этой волны.

Наряду с оценкой амплитуды и временных параметров ЭРГ использовалось соотношение «b»/«а»-волн, при этом учитывали, что в норме «b»-волна в два раза превышает «а»-волну.

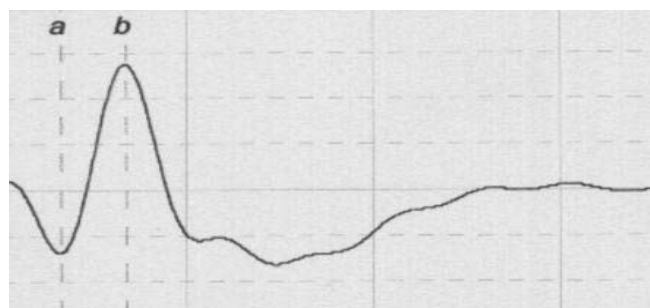
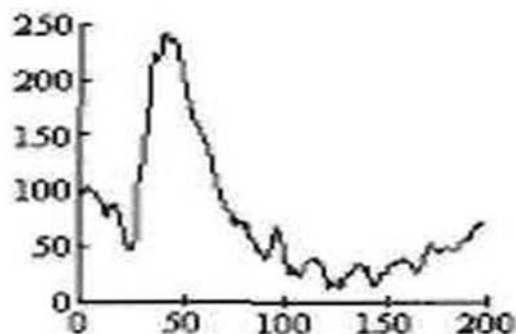


Рис. 1. Электроретинограмма здоровой собаки

Нами установлено, что при генерализованной прогрессирующей атрофии сетчатки происходит снижение амплитуды и наклона «а»-волны, а также увеличение времени до пика. «b»-Волна характеризуется снижением наклона и амплитуды и увеличением времени до пика.

Результаты исследования. На рис. 2 показана клиническая картина глазного дна собаки с диагнозом – генерализованная прогрессирующая атрофия сетчатки умеренной стадии, а также ее электроретинограмма. Из рисунка видно, что сосудистая сеть ослаблена незначительно, наблюдается повышенная гиперрефлекторность тапетума, изменения диска зрительного нерва выражены слабо. Результаты электроретинограммы следующие: «а»-волна составляет на скотопической электроретинограмме R-C1 R. 33,3 и L-C1 R. 48,1. «b»-Волна составляет на скотопической электроретинограмме R-C1 R. 64,6 и L-C1 R. 94,2. Снижение параметров «а»-волны свидетельствует о нарушении функции фоторецепторов, уменьшении их количества вследствие дегенеративных процессов. Уменьшение амплитуды «b»-волны говорит о снижении функции биполярных и мюллерных клеток и, как следствие, ведет к нарушению проводимости между фоторецепторами и остальными клетками сетчатки, из-за чего функция зрения снижается.

На рис. 3 показана клиническая картина глазного дна собаки, страдающей генерализованной прогрессирующей атрофией сетчатки на поздней стадии, а также представлена ее электроретинограмма. На глазном дне можно увидеть почти полное отсутствие сосудов, выраженную гиперрефлекторность, побледнение диска зрительного нерва, свидетельствующее о полной его атрофии. Такую клиническую картину характеризует электроретинографическая волна с измененными параметрами, такими как: «а»-волна составляет на скотопи-

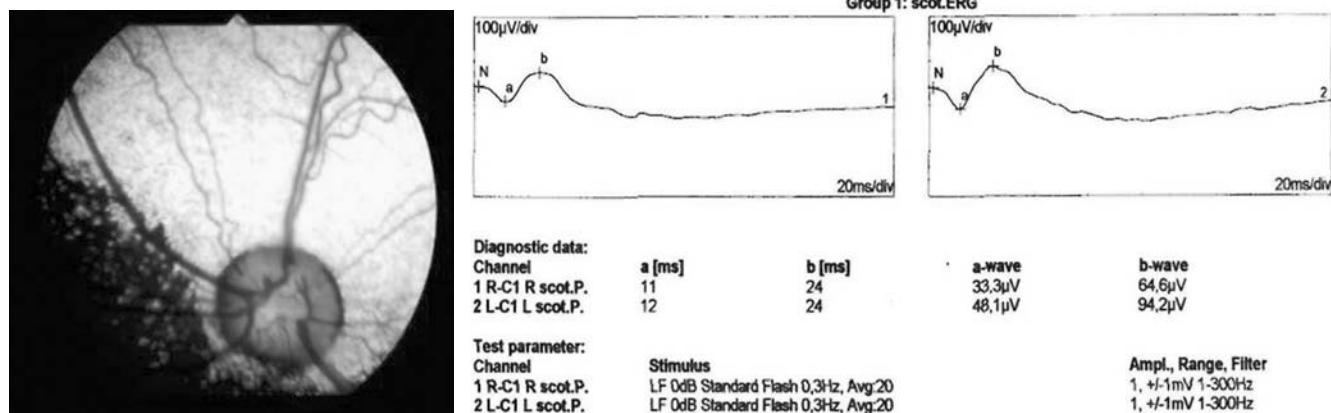


Рис. 2. Глазное дно и электроретинограмма собаки с генерализованной прогрессирующей атрофией сетчатки средней стадии

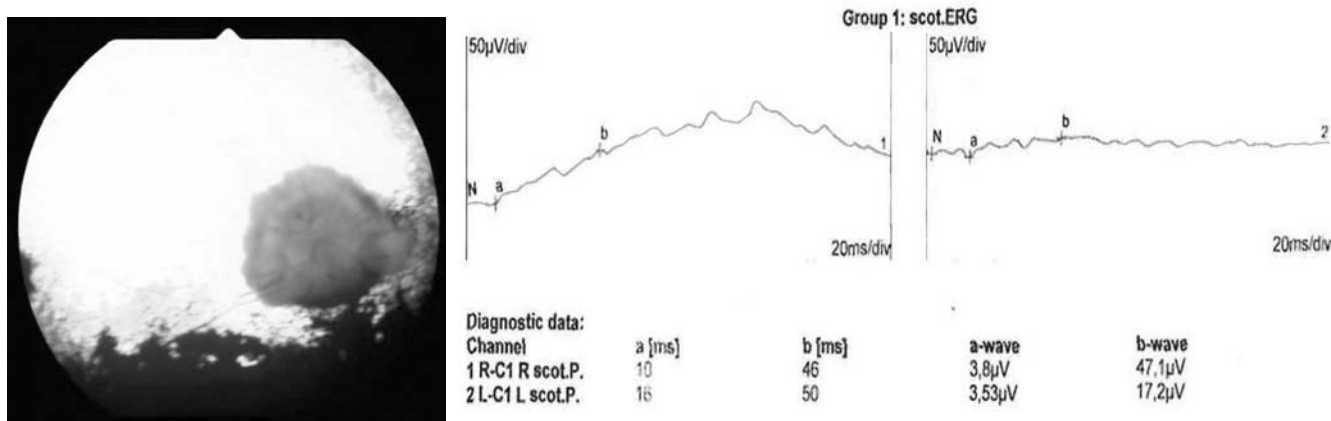


Рис. 3. Глазное дно и электроретинограмма собаки с генерализованной прогрессирующей атрофией сетчатки на поздней стадии

ческой электроретинограмме R-C1 R. 4.73 и L-C1 R. 3.31. «b»-волна составляет на скотопической электроретинограмме R-C1 R. 21.2 и L-C1 R. 21.5. Полное отсутствие «a»- и «b»-волн говорит о дегенерации фоторецепторов, биполярных клеток и клеток Мюллера, нарушении их проводимости и, как результат, незначительный ответ сетчатки на световой стимул.

Выводы. Электроретинографическое исследование является объективным методом исследования, используемым для изучения функционального состояния

сетчатки, для диагностики и дифференциальной диагностики наследственных заболеваний сетчатки и зрительного нерва. Используя показатели электрических потенциалов сетчатки, можно даже на ранних стадиях заболевания выявлять животных с нарушением функции палочек, колбочек и других клеток, отвечающих за зрительное восприятие.

Контактная информация:
Депта Эвелина deptunia@mail.ru



УДК 619.617.7:636.7(06)

А.В. ФЕДОРЧЕНКО-ЦУКАНОВА, Л.Ф. СОТНИКОВА

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ
ГРИБКОВОГО ЯЗВЕННОГО КЕРАТИТА У ЛОШАДЕЙ**

В статье описаны клинические признаки, этиология, патогенез грибкового язвенного кератита у лошадей

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: роговица, кератит, васкуляризация, анастомозы, грибок, диагноз.

A.V. FEDORCHENKO-TSUKANOVA, L.F. SOTNIKOVA

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

PATHOGENETIC QUALITIES OF FLOW FUNGOUS ULCEROUS KERATITIS IN HORSES

This article described the clinical signs, etiology, pathogenesis of fungous ulcerous keratitis in horses.

KEYWORDS: cornea, keratitis, vascularization, anastomoses, fungus, diagnosis.

Введение. Изучение заболевания роговой оболочки глаза является одной из фундаментальных проблем современной ветеринарной офтальмологии. Одним из наиболее часто встречающихся заболеваний являются болезни роговицы у лошадей.

По нашим данным, лошади гораздо чаще (78% случаев) болеют кератомикозами. Этому, как мы полагаем, способствует большой размер роговицы, а также большое количество грибковой флоры, постоянно находящейся в конъюнктивальной полости. Это также связано с видовой особенностью лошади, у которой несовершенны местные механизмы защиты глаза. По данным литературы известно, что в отличие от других видов животных у лошадей прероговичная слезная пленка не полностью выполняет защитную функцию по отношению к роговице. Это также связано с особенностями строения роговицы: она является наиболее выступающей оболочкой глазного яблока, следовательно, подвергается воздействию всех неблагоприятных факторов внешней среды. Разветвленная сеть прекоorneальных сосудов и активная иннервация данного участка приводит к развитию быстрой ответной реакции в склере, конъюнктиве, радужке и цилиарном теле. В роговице нет сосудов, все обменные процессы в ней замедлены, в связи с этим роговица легко вовлекается в патологический процесс и медленно выходит из него. Стоит отметить, что, несмотря на имеющиеся исследования в данном направлении, малоизученными остаются вопросы изучения диагностических клинических критериев грибкового язвенного кератита у лошадей.

Материалы и методы исследования. Материалами для исследования послужили больные лошади с диагнозом – грибковый язвенный кератит, исследования проведены на частных конюшнях Московской области.

Результаты исследований. Нами выявлено, что грибковый язвенный кератит у лошадей чаще всего встречается в весеннее время года (до 80 % случаев)

и развивается после незначительных повреждений роговицы остью злаков, шелухой семян, листьями (растительным материалом), а также при длительном применении антибиотиков, кортикостероидов. Факторами развития являются неблагоприятные условия кормления и содержания животных. Выявлено, что у всех заболевших лошадей в конюшнях не соблюдались зоо-гигиенические требования: в конюшне были низкие потолки, повышенная влажность воздуха, подстилка плохого качества (солома и опилки), из-за чего конечности были поражены грибковыми заболеваниями. Анализируя факторы риска, отражающие рацион и качество кормов больных лошадей установлено, что овес был поражен плесневым грибом. У всех исследованных лошадей в смывах из конъюнктивальной полости были обнаружены грибы рода *Aspergillus*. Делался посев на среду Чапика (рис. 1, 2).

Аспергиллез – заболевание, вызываемое грибами рода *Aspergillus*. Аспергиллы – широко распространенные в природе сапрофиты, круглогодично выделяющие споры. Попадание аспергилл в конъюнктивальную полость происходит из окружающей среды (заплесневелое сено; овес, пораженный грибом). Грибковый язвенный кератит представляет особую трудность для диагностики и лечения. Болезнь может начаться остро или незаметно для животного. Основной проблемой в ранней диагностике грибкового язвенного кератита и его лечения является плохая осведомленность или полное ее отсутствие о данном заболевании у владельца животного и ветеринарных специалистов. Многие неспецифические клинические признаки, такие как слезотечение, светобоязнь, блефароспазм и гиперемия конъюнктивы, расценивают как основное заболевание, и более детального осмотра не происходит, что в итоге приводит к постановке неправильного диагноза, назначения неадекватного лечения и в конечном счете к частичной или полной потере зрения.

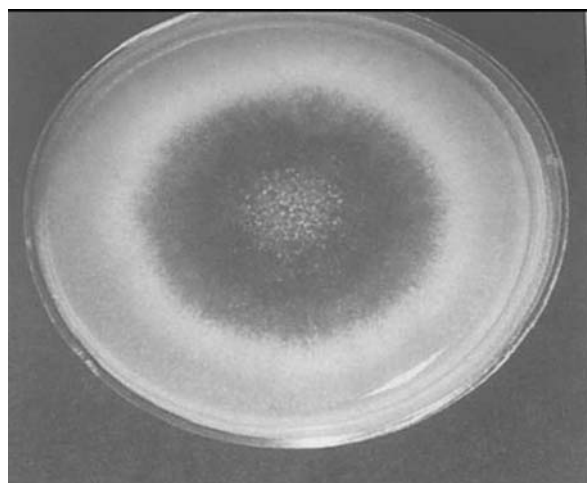
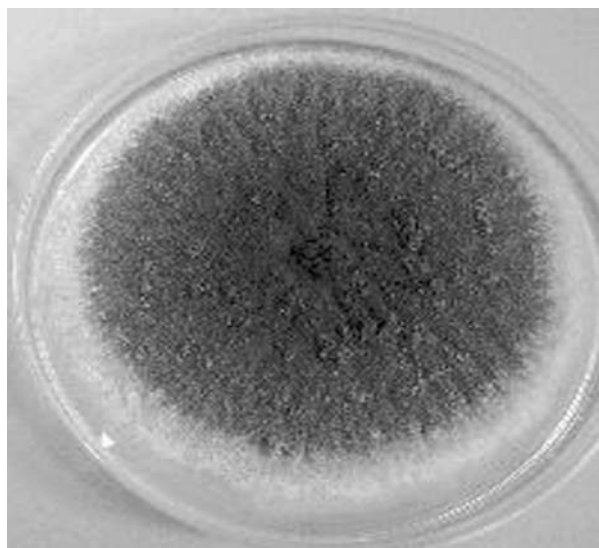


Рис. 1, 2. *Aspergillus* на среде Чапика (фото автора)

Развитию заболевания также способствует снижение общей резистентности организма, развивающейся на фоне поствакцинальных осложнений. Большинство лошадей за два месяца до заболевания грибковым язвенным кератитом тяжело перенесли плановую вакцинацию от ринопневмонии. У всех вакцинированных лошадей наблюдалось повышение общей температуры, отказ от корма, угнетение, отек дистальных отделов конечностей.

Анализируя факторы риска в развитии данной офтальмопатии, установлено, что для лечения грибкового язвенного кератита, как правило, применяли антибиотиковую терапию вне зависимости от характера течения заболевания. Применение антибиотиков проводилось бессистемно, без определения схемы, длительно и с применением препаратов иммуносупрессивной терапии. Кроме того, больным лошадям не изменялся рацион питания, содержания и нагрузки.

Немаловажное значение в развитии необратимых изменений является поздняя диагностика грибкового язвенного кератита.

На фоне сильного раздражения, чаще в центральной зоне, вначале появляется инфильтрат округлой формы серо-желтого цвета. Инфильтрат, как правило, резко отечен, поверхность роговицы на этом месте как бы истыкана. Со временем (2-4 дня) инфильтрат быстро распадается, и в этом месте появляется неглубокая язва. В отличие от простой язвы один край этой язвы слегка уплощен, другой приподнят и подрыт. Вокруг этого края имеется желтая гнойная полоска инфильтрата, так называемый прогрессивный край язвы. Противоположный край язвы чистый (рис. 6).

Основными клиническими субъективными симптомами заболевания являлись: светобоязнь, слезотечение, блефароспазм (сужение глазной щели) и болезненность (рис. 3, 6). У 13 животных (65% исследованных случаев) происходило снижение функции зрения на фоне развившегося грибкового язвенного кератита. Светобоязнь и блефароспазм были обнаружены у 20 лошадей (100% случаев), болезненность при пальпации – у 17 лошадей (85% случаев), у 18 лошадей наблюдалась гиперемия и отек век (90% случаев).

Основными объективными клиническими признаками явились: нарушение гладкости и сферичности роговицы у 20 лошадей (100% случаев), прозрачности, блеска и зеркальности – у 18 лошадей (90% случаев) (рис. 4, 5, 7).

Сплошной розовый, красный или синюшно-красный венчик – перикорнеальная инъекция сосудов вокруг роговой оболочки – наблюдался у 13 лошадей с грибковым язвенным кератитом (65% случаев). У 14 животных (70% случаев) перикорнеальная инъекция сочеталась с гиперемией конъюнктивы, т.е. обнаруживалась смешанная инъекция сосудов глазного яблока (рис. 4, 5).

Помутнение роговицы, основой которого являлся инфильтрат, встречалось у 17 лошадей (85% случаев). У всех исследованных животных на краях язвы помутнение было выражено сильнее, чем в центре, особенно на одной стороне (рис. 7). Этот край был подрыт и указывал направление, в котором прогрессировала язва (прогрессирующий край). Роговица была тусклой, матовой, а в месте воспаления – шероховатой.

У 15 животных отмечали васкуляризацию. Поверхностные сосуды были обнаружены у 15 лошадей, т.е. в 75% случаев, а глубокие – у 12 лошадей (60% случаев).

Поверхностные сосуды переходили через лимб на роговицу, древовидно ветвились, анастомозировали между собой и располагались в поверхностных слоях роговицы под эпителием, они были ярко-красного цвета. Глубокие сосуды были видны только в пределах роговицы. Они не анастомозировали между собой, имели вид коротких и длинных метелочек, казались тусклыми, серовато-красными, т.к. были прикрыты тканью роговицы.

Сосуды появлялись в прогрессирующем периоде заболевания, вставая в роговицу, направлялись к язве. На 10–12 день воспаления они достигали язвы, формировали её дно и края, образуя грануляционный барьер. Появление их положительно сказывалось на заживлении и служило, вероятно, компенсаторным актом.



Рис. 3. Абсцесс роговицы



Рис. 6. Ползучая язва роговицы



Рис. 4. Абсцесс роговицы

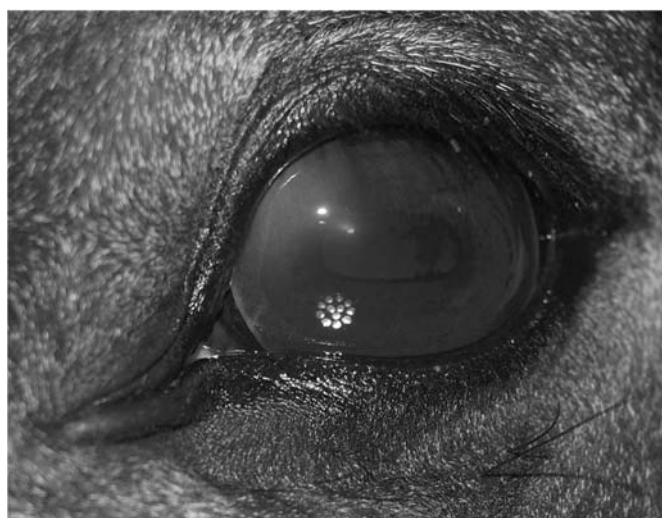


Рис. 7. Инфильтрация роговицы



Рис. 5. Абсцесс роговицы

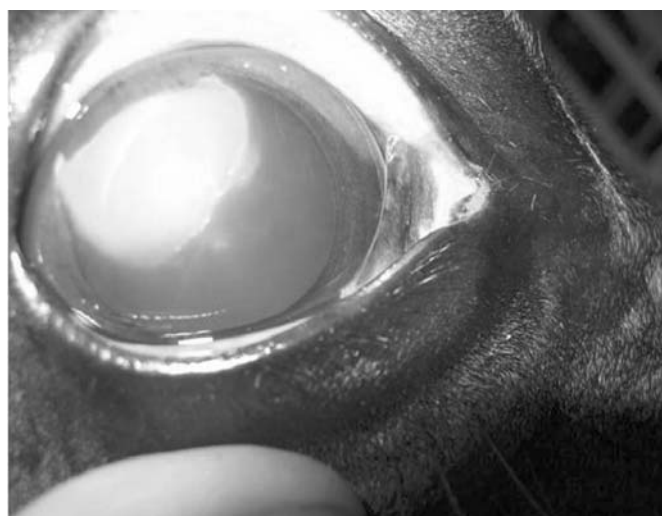


Рис. 8. Ползучая язва роговицы

(фото автора)

Контактная информация:
Федорченко-Цуканова Анна Витальевна
Тел.: 89096729988



ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У СОБАК, БОЛЬНЫХ ПИОМЕТРОЙ

Были изучены биохимические индексы печени собак, больных пиометрой. Замечено высокое содержание билирубина, трансаминазы аспартата, щелочной фосфатазы и уменьшение содержания альбумина. После овариогистероэктомии все индикаторы имели тенденцию прийти к норме. На основе полученных данных для лечения пиометры у сук рекомендуется применять гепатопротекторы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: собаки, пиометра, биохимические показатели печени.

T.Sh. KUZNETSOVA

Sankt-Peterburg state academy of veterinary medicine

THE CHARACTERISTIC OF A FUNCTIONAL CONDITION OF A LIVER AT THE DOGS WITH PYOMETRA

Biochemical indices of the liver of dogs with pyometra was studied. There was significant high content of bilirubin, aspartate transaminase, alkaline phosphatase and decreased albumin. After ovariogysteroektomy all indicators had a tend to be the norm. It was recommended in the treatment of pyometra in bitches using hepatoprotectors.

KEYWORDS: dogs, pyometra, functional condition of a liver.

Частыми заболеваниями репродуктивной системы собак являются различные метриты. В зависимости от содержимого матки различают пиометру (гной), гематометру (кровь), мукометру (слизь), гидрометру (сыворотка крови, слизь).

Пиометра чаще всего встречается у сук среднего и старшего возраста. Симптомами этого заболевания являются анорексия, полидипсия, полиурия, общее угнетённое состояние животного, иногда возможна рвота; повышенная температура тела не является постоянным признаком. При пальпации можно выявить увеличенные в несколько раз рога матки и саму матку. Сроки развития пиометры могут быть от нескольких дней до месяцев, но, как правило, клинически болезнь проявляется на 2-8 неделе после эструса. Нередко у сук при пиометре можно наблюдать поликистоз яичников [1].

Причиной пиометры, по данным многих авторов [1, 6], считается гормональный дисбаланс. Длительное повышение концентрации прогестерона в крови приводит к снижению резистентности эндометрия матки. Вследствие гиперсекреторных процессов происходит накопление слизи в матке, элиминация условно-патогенной микрофлоры из влагалища и развитие острого сепсиса, что неизбежно отражается на функциях печени.

Существует два основных способа лечения пиометры: консервативный и радикальный. При консервативном лечении используется простагландин E2 в комплексе с препаратами, способствующими открытию шейки матки, и антибиотиками широкого спектра действия [2]. Однако этот метод лечения является достаточно рискованным из-за высокой степени летальности и неизбежных рецидивов заболевания. При радикальном лечении используется овариогистероэктомия.

Для клинической практики актуально изучение функционального состояния печени собак, больных пиометрой. Печень – это важное звено в патогенезе септических процессов. Такие биохимические показатели, как альбумин, билирубин, АЛТ, АСТ, ЩФ отражают функциональное состояние печени [3, 7, 8].

Цель исследования. Определить концентрации различных биохимических показателей печени в крови собак, больных пиометрой, и выявить динамику этих же показателей на 3 и 10-е сутки после овариогистероэктомии. На основе полученных результатов оценить функциональное состояние печени у этих собак.

Исследования проводились на кафедре оперативной хирургии ФГОУ ВПО СПбГАВМ.

Материалы и методы. У 10 собак в возрасте от 6 до 12 лет проводили забор крови из подкожной вены предплечья до операции, на 3 и 10-е сутки после. Контролем служили здоровые животные. Показатели определяли на биохимическом анализаторе «Hospitex Diagnostics» с использованием реактивов той же фирмы. Статистическая обработка данных проводилась в программе «Microsoft Excel 2007».

Результаты и обсуждение. Полученные результаты представлены в таблице.

При анализе полученных данных мы видим достоверное увеличение, по сравнению с контролем, содержания общего белка. Однако эти показатели не выходят за пределы референтных значений.

Количество альбумина достоверно снижено у больных животных. Примерно на том же уровне оно остаётся и на 3-и сутки после овариогистероэктомии. На 10-е сутки после операции количество альбумина возрастает, но контрольного уровня не достигает и остаётся за нижним пределом референтных значений. Возможно, что низкий уровень альбуминов в крови связан с их вымыванием в результате полиурии, или наличием кровотечения в матке, что свойственно данной патологии или недостаточной синтетической активностью печени. Кроме того, альбумин является негативным острофазным белком, вследствие чего при воспалении часто наблюдается слабая протеинемия [3].

Концентрация билирубина достоверно увеличена по сравнению с контролем, постепенно снижается к 10-м суткам, но все же превышает нормативные показатели



Биохимические показатели крови собак, больных пиометрой, до и после овариогистерэктомии

Период исследования	Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	Билирубин общий, мкмоль/л	АСТ, МЕ/л	АЛТ, МЕ/л	Креатинин, мкмоль/л	Мочевина, ммоль/л	ЩФ, МЕ/л
Референтный диапазон	57-76	28-39	0-4	10-50	15-90	60-128	3,1-10,9	18-94
Контроль	62,60±6,06	33,60±2,40	2,66±0,53	39,00±3,14	58,04±6,06	89,46±4,53	4,90±0,96	28,72±3,81
До операции	71,02±0,25*	22,38±0,20*	6,90±0,23*	89,80±3,96*	94,72±4,01*	130,92±5,64*	13,30±1,38*	126,20±6,96*
3-и сутки после операции	71,80±1,68*	22,16±0,85*	6,86±0,17*	88,48±3,59*	92,14±3,57*	125,28±6,36*	12,60±1,55*	123,32±7,42*
10-е сутки после операции	66,20±5,31	26,62±1,38*	4,98±0,30*	79,14±3,37*	90,86±3,21*	126,9±6,16*	11,80±1,03*	104,10±5,74*

Примечание. Здесь и далее по тексту: АСТ – аспартатаминотрансфераза, АЛТ – аланинаминотрансфераза, ЩФ – щелочная фосфатаза; * – достоверные отличия от контроля (p<0,05).

и референтные значения. Факторы воспаления и вещества бактериальной природы могут вызывать септический холестаз, в результате чего развивается гипербилирубинемия [3].

Уровень АСТ достоверно превышает контрольные значения. Наблюдается тенденция к снижению, однако на 10-е сутки после операции данный показатель значительно выше относительно референтных значений. АСТ – фермент, содержащийся в клетках сердца, печени, почек, нервной ткани, скелетной мускулатуры. Известно, что резкое увеличение количества АСТ в крови может быть признаком разрушения сердечной мышцы (инфаркта). Согласно литературным данным [4], инфаркт редко является причиной смерти у собак старшего возраста. Было показано, что увеличение концентрации тропонина I (сТnI), который является ранним и специфичным маркером поражения сердечной мышцы, не связано с пиометрой [5]. Поэтому, по-видимому, увеличение АСТ при пиометре сопряжено с острой воспалительной реакцией организма. Также известно, что увеличение концентрации эстрадиола, что отмечается у собак с пиометрой [6], вызывает повышение таких печеночных ферментов, как АСТ и ЩФ [7].

Значения АЛТ достоверно увеличены по сравнению с контрольными показателями. К 10-м суткам после операции количество АЛТ превышает контроль, но практически находится в пределах референтных значений.

Такой показатель, как креатинин, достоверно выше относительно контроля, но в целом все цифры лежат в границах референтных показателей.

Концентрация мочевины достоверно выше относительно контроля. Возможно, это связано с дегидратацией организма или почечной недостаточностью. Имеется некоторая тенденция к снижению, и к 10-м суткам показатель находится почти на верхней границе нормативных показателей.

Количество щелочной фосфатазы достоверно выше в несколько раз контрольных значений. К 10-м суткам происходит снижение концентрации ЩФ, однако уровень этого фермента остается ещё высоким и не достигает референтных значений. Общая активность ЩФ складывается из активностей печеночных и костных изоферментов (активность последних у взрослых животных возрастает при опухолях костей). Поэтому повышение ЩФ при пиометре может быть связано с напряженной функцией печени и/или воздействием эстрадиола [7].

Выводы. При пиометре у сук происходит достоверное увеличение по сравнению со здоровыми животными таких показателей крови, как общий белок, билирубин, АСТ, АЛТ, креатинин, мочевины и ЩФ. Количество альбумина достоверно уменьшается. За пределы допустимых значений выходят только концентрации альбумина, билирубина, АСТ и ЩФ.

К 10-м суткам после овариогистерэктомии у собак имеется тенденция к нормализации по всем исследуемым показателям. Уровня здоровых животных достигают показатели общего белка, АЛТ, креатинина и мочевины. Количество альбумина, билирубина, АСТ и ЩФ имеют направленность к значениям здоровых животных, но всё же находятся вне пределов нормативных показателей. Так как все эти показатели напрямую взаимосвязаны с функциональной активностью печени, то при лечении пиометры у сук, по-видимому, необходимо применять гепатопротекторы.

Все изучаемые показатели имели тенденцию к нормализации, что можно констатировать, как адаптацию организма и оптимизацию всех жизненно важных функций.

Список литературы

1. Карташов С.Н. Метропатии собак (диагностика, классификация, лечение): Дисс. ... докт. вет. наук, 2005.
2. Feldman E.C., Nelson R.W. Diagnosis and treatment alternatives for pyometra in dogs and cats (p.1305-1310) / Kirk Robert W. Current veterinary therapy small animal practice. – London: W.B. Saunders Company, 1989. – 1421 p.
3. Мейер Денни. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. – М.: Софион, 2007. – С. 225.
4. Кудряшов А.А., Алексеева Л.Р., Павлова А.В., Лаковников А.Е. Причины смерти собак старшего возраста в Ленинграде – Санкт-Петербурге // Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных. – Ставрополь: АГРУС, 2007. – С. 264-267.
5. Hagman R., Bergstrom A., Haggstrom J. Cardiac troponin I levels in canine pyometra. // Acta veterinaria Scandinavica, 2007, Feb. 28; 49:6.
6. Федин А.А. Эндокринологическая и микробиологическая характеристика послеродового эндометрита у сук // Ветеринария с.-х. животных, 2006, №10. – С. 72-73.
7. Уиллард М., Тведтен Г., Торнвальд Г. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных. – М.: Аквариум, 2004. – 431 с.
8. Методы ветеринарной клинической диагностики: Справочник / Под ред. проф. И.П. Кондрахина. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.

Контактная информация:
Кузнецова Т.Ш., kuznetT@yandex.ru



ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ИЗ МОЛОК ЛОСОСЁВЫХ РЫБ ПРИ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ

В работе, представленной автором, в качестве радиозащитного средства исследуется применение биологического препарата, полученного из молок рыб. Экспериментально выявлено повышение выживаемости лабораторных животных при облучении в летальных дозах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ионизирующее излучение, летальная доза, выживаемость.

A.V. POZDEEV

Military academy of radiation's, chemical's and biological's protects, Kostroma

APPLICATION OF THE PREPARATION FROM SOFT ROE OF SALMON FISHES AT RADIATION INJURIES

In the work presented by the author, as radio protective means application of the biological preparation received from soft roe of fishes is investigated. Increase of survival rate of laboratory animals is experimentally revealed at an irradiation in lethal doses.

KEYWORDS: ionizing radiation, a lethal dose, survival rate.

В 60-е годы прошлого века Н.В. Тимофеев-Ресовский вместе с К.Г. Циммером и Д.Э. Ли, изучая поглощение энергии излучений в микрообъёмах, создали теорию мишеней, при этом прохождение кванта энергии через мишень назвали «принципом попадания». После открытия структуры молекулы ДНК – носителя генетической информации в клетке – стало ясно, что такой мишенью и является молекула ДНК [1, 2].

Ответная реакция клетки на раздражитель строго регламентирована и сводится либо к «ремонту» повреждения в геноме (ДНК), либо к замене повреждённого элемента вновь образованным с помощью их (элементов) «размножения», то есть путём воссоздания молекулы или клетки вместо повреждённой, состарившейся или погибшей [3, 4]. Специальным механизмом, поддерживающим постоянство структуры тканей, считается апоптоз, то есть самоуничтожение постаревших или повреждённых клеток, которые не в состоянии выполнять присущие им функции.

Ответные реакции клетки на повреждения однотипны и происходят они непрерывно с постоянной скоростью, обуславливая тем самым постоянство обмена веществ и сохранение всех внутренних и внешних параметров жизнедеятельности. Основой повреждения, приводящего к гибели клетки, является повреждение ДНК в виде образования одного, двух или нескольких нитевых разрывов. Радиационная гибель клетки ничем не отличается от общебиологического феномена клеточной гибели. При этом для каждого вида клетки существует свой порог дозы, ниже которого невозможно её повреждение. Существует порог дозы облучения и организма в целом.

Выработанные живым организмом защитные механизмы против поражающего действия различных факторов окружающей среды имеют свои границы и эффек-

тивны только до определённого уровня их воздействия, называемого «порогом». Порог доз облучения – это те уровни доз, выше которых наблюдается поражение различных органов или тканей организма, причём с учётом радиочувствительности, то есть наблюдаются детерминированные или прямые эффекты. Вероятность проявления стохастических эффектов зависит, во-первых, от величины практического дозового порога и, во-вторых, от длительности скрытого периода, который при «малых дозах» может превышать продолжительность жизни конкретного вида. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что частота возникновения злокачественных новообразований возрастает только тогда, когда продолжительность жизни будет больше величины скрытого периода.

Важно отметить, что в любом организме существуют и постоянно действуют механизмы репарации повреждений, включая и репарации ДНК, образования новых клеток вместо погибших как от облучения, так и от апоптоза, а также механизмы компенсации других морфологических и функциональных повреждений. В связи с этим присутствие механизмов активного ответа тканей организма и прежде всего клетки на повреждение атома или молекулы излучением должно нарушать линейность процесса выхода эффекта облучения от дозы.

Целью работы является защита живого организма от поражения в условиях получения летальных и сверхлетальных доз.

Основные задачи исследования сводились к следующему:

1. Разработка способа получения препаратов из рыбобпродуктов.
2. Оценка радиозащитного действия приготовленных препаратов.



Выживаемость мышей при применении ДНК-препарата

№ п/п	Группа	Доза облучения, Гр/Р	Кол-во животных	Выжило на 30 суток		Продолжительность жизни, сут.
				абс.	%	
1.	Контроль	7,83/900	5	0	0	14-16
2.	Молоки (натив) до облуч.		5	1	20	20-26; 46
3.	Контроль	8,7/1000	10	0	0	14-17
4.	Гидролизат до и после		5	0	0	14-16
5.	ДНК в буфере 1:10 до и после		5	2	40	21; 164-190
6.	ДНК в физрастворе 1:10 до и после		5	4	80	21; 34; 210
7.	0,001% гидролизат до облучения		5	0	0	15-17
8.	0,001% гидролизат до и после облучения		5	0	0	14-16
9.	0,01% гидролизат до облучения		8,7/1000	5	0	0
10.	0,01% гидролизат до и после облучения	5		0	0	14-16
11.	0,1% гидролизат до облучения	5		0	0	14-17
12.	ДНК в физрастворе 1:5 после облучения	13,05/1500	5	0	0	4-9
13.	ДНК в физрастворе 1:10 после облучения по 0,2 мл в/м	17,4/2000	5	0	0	7-10
14.	ДНК в физрастворе 1:10 после облучения по 0,4 мл в/б		5	0	0	4-8
15.	ДНК в физрастворе 1:5 до и после облучения по 0,2 мл в/м		5	0	0	4-7
16.	Контроль		5	0	0	4-6

Материалы и методы. В работе было использовано 85 белых нелинейных мышей массой 20-22 г, которых содержали в условиях вивария при свободном доступе к воде и корму для лабораторных животных. Из животных было сформировано несколько групп: контроля и испытуемые. Животные были подвергнуты однократному тотальному равномерному воздействию гамма-излучения Cs-137 на установке «Панорама» при мощности 4,3 Р/мин. в дозах 7,83-17,4 Гр (900-2000 Р).

ДНК-содержащий препарат был получен из молок лососевых рыб. За основу получения препарата взят метод «Определение концентрации нуклеиновых кислот и белка в тканях» по R.W. Wannemacher, (1965). Исследовались нативный препарат молока, разведённый физраствором 1:10, гидролизаты разных концентраций (0,1%; 0,01%; 0,001%), полученный сухой ДНК-препарат, разведённый в физрастворе 1:5, 1:10; полученный сухой ДНК-препарат, разведённый в буферном растворе 1:10. Полученные препараты расфасовывали во флаконы ёмк. 20-30 мл. Для стерилизации препарата использовали стрептомицина сульфат. Препараты вводили внутримышечно в дозе 0,2 мл; внутрибрюшинно в дозе 0,4 мл: за 10-15 мин. до облучения; до облучения

и через 10-15 мин. после облучения; через 10-15 мин. после облучения. Показателями эффективности препаратов служили выживаемость животных в течение 30 суток после облучения и продолжительность жизни особей.

Результаты и обсуждение. Результаты изучения противолучевых свойств ДНК-содержащего препарата представлены в таблице. Из таблицы видно, что при внутримышечном введении препаратов за 10-15 минут до и 10-15 минут после облучения наиболее эффективными свойствами он обладает в группах 5 и 6 при разведении препарата в буферном и физрастворе в соотношении 1:10. Это обеспечило выживание лабораторных животных до 40%, 80% соответственно при 100% гибели в контроле. Абсолютно смертельной дозой облучения для мышей является доза 7,83 Гр (900 Р).

Результаты исследований. Нативный препарат молока, введённый за 10-15 минут до облучения, оказывает радиозащитное действие при облучении в абсолютно смертельной дозе 7,83 Гр (900 Р) и преодолевает биологический период 30-дневной выживаемости при 100%-ной гибели мышей в контроле, обеспечивая продолжительность жизни до 46 суток при сроке жизни 14-



16 суток в контроле. Гидролизаты различных концентраций, введённые внутримышечно до облучения, до и после облучения в дозе 8,7 Гр (1000 Р), не проявили радиозащитных свойств. Положительный радиозащитный эффект от применения ДНК-содержащего препарата, разведённого в буферном и физрастворах в соотношении 1:10, предположительно связан с быстрым восстановлением повреждённых радиацией участков ДНК в клетках тканей лабораторных животных. Применение ДНК-препарата, разведённого физраствором в соотношении 1:5 после облучения в дозе 13,05 Гр (1500 Р), в соотношении 1:10 до и после облучения, после облучения в дозе 17,4 Гр (1500 Р), не проявило радиозащитного свойства.

Выводы. Применение ДНК-препарата, разведённого в буферном растворе в соотношении 1:10, в физрастворе 1:10, до и после облучения в дозе 8,7 Гр (1000 Р), обеспечивает выживаемость животных до 40% и 80% при 100%-ной гибели в контроле. Применение препарата

ратов из молок при дозе облучения в 13,05 Гр (1500 Р), 17,4 Гр (2000 Р) не оказывает влияния на выживаемость, увеличивается только продолжительность жизни мышей по сравнению с контролем. Лечебно-профилактические свойства моноприменения полученного биопрепарата ограничиваются дозой 8,7 Гр (1000 Р).

Список литературы

1. Ли Д.Е. Действие радиации на живые клетки. – М.: Госатомиздат, 1963.
2. Тимофеев-Ресовский Н.В., Иванов В.И., Корогодин В.И. Применение принципа попадания в радиобиологии. – М.: Атомиздат, 1968.
3. Хансон К.П., Комар В.Е. Молекулярные механизмы радиационной гибели клеток. – М.: Энергоатомиздат, 1985.
4. Ярмащенко С.П. Низкие уровни излучения и здоровье // Мед. радиол. и радиац. Безопасность. – М., 2000. – Т. 45, № 3. – С. 5-32.

Контактная информация:

Поздеев Александр Владимирович, 8 (915) 9025342

А.В. ПОЗДЕЕВ

Военная академия радиационной, химической и биологической защиты, г. Кострома

В.К. ПРОМОНЕНКОВ

ООО «Лимекс-Фарма»

Н.П. ЛЫСЕНКО

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПИГМЕНТА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРА ЭЛЕКТРОННО-ВОЗБУЖДЁННЫХ СОСТОЯНИЙ

В работе, представленной автором, в качестве радиозащитного средства исследуется применение растительного пигмента хлорофилла. Экспериментально выявлено повышение выживаемости лабораторных животных при облучении в летальных дозах.

Ключевые слова: хлорофилл, ионизация, летальная доза, выживаемость.

A.V. POZDEEV,

Military academy of radiation's, chemical's and biological's protects, Kostroma

V.K. PROMONENKOV

SLL «Limex-Pharma»

N.P. LYSENKO

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

APPLICATION OF THE VEGETATIVE PIGMENT IN QUALITY RETARDING AGENT AT SET STATES OF ELECTRON

In the work presented by the author, as radio protective means of a vegetative pigment of a chlorophyll is investigated. Increase of survival rate of laboratory animals is experimentally revealed at an irradiation in lethal doses.

KEYWORDS: chlorophyll, ionisation radiation, lethal dose, survival rate.

Механизм действия средств химической защиты от лучевого поражения связан с теми первичными физическими и химическими процессами, которые происходят в ткани при облучении. Можно выделить две основные фазы преобразования энергии излучения в тканях:

а) образование возбуждённых и ионизированных атомов и молекул;

б) дальнейший размен энергии ионизированных и возбуждённых атомов и молекул.

Вторая фаза размена поглощённой тканью энергии имеет весьма важное значение для понимания механиз-



**Выживаемость мышей
при дозе облучения 1500 Р (13,05 Гр)**

Группа	Кол-во животных	Результат	Сутки									
			6	7	9	10	11	12	13	28	128	
5	10	Пало								6	4	
		Выжило								4	0	
6	10	Пало								6	2	2
		Выжило								4	2	0
7	10	Пало								10		
		Выжило								0		
8	10	Пало			2	4	2	2				
		Выжило			8	4	2	0				
9	10	Пало	8	2								
		Выжило	2	0								

Оценивая «работу» хлорофилла в «запредельных» дозах облучения, следует отметить, что его применение увеличивает продолжительность жизни мышей в сравнении с контролем даже в сверхлетальных дозах облучения в 2000 Р (17,4 Гр), а при дозе в 1500 Р (13,05 Гр) группа 5 почти дошла до показателя 30-дневной выживаемости, а группа 6 преодолела этот показатель при 100%-ной гибели в контроле. Животные переболели лучевой болезнью и пережили 30-дневный рубеж, превысив сроки гибели почти в 4 раза (6 группа).

Выводы. Хлорофилл в указанных разведениях обладает свойством перехватывать и ингибировать поглощённую энергию ионизирующего излучения, ослабляя патогенез лучевого поражения.

Список литературы

1. Бурназян А.И., Лебединский А.В. Радиационная медицина. – М.: Госатомиздат, 1963, 372 с.

Контактная информация:

*Поздеев Александр Владимирович,
8 (915) 9025342*

ма действия средств химической защиты. Если эффект поражения организма является результатом реакции возбуждённых и ионизированных молекул растворённых веществ, то введение в организм «тушителей», способствующих переходу энергии ионизации и возбуждения в тепловую энергию, может дать защитный эффект [1].

Целью исследования являлось изучение действия пигмента хлорофилла на выживаемость мышей при ионизирующем облучении. Задача исследования заключалась в оценке противолучевого действия хлорофилла.

Методика исследований. На производственных мощностях ООО «Лимекс-Фарма» (г. Москва) был произведён из растительного сырья растительный пигмент – хлорофилл. Для экспериментов исследовался препарат хлорофилл в разведении с физраствором 1:5, 1:2, 1:1. Перед применением суспензию разливали во флаконы ёмкостью 20 мл, для стерилизации добавляли стрептомицина сульфат. Исследование радиозащитных свойств проводили на белых беспородных мышах в количестве 90 голов. Были сформированы группы: контрольные и испытуемые. Животные обеих были подвергнуты однократному тотальному равномерному воздействию гамма-излучения Cs-137 на установке «Панорама» при мощности 4,3 Р/мин. в дозах 7,83-17,4 Гр (900-2000 Р). Препарат вводили внутримышечно в объёме 0,2 мл. Опытные животные были разделены на группы, которым вводили хлорофилл до и после облучения:

- 1) хлорофилл в разведении с физраствором 1:2, за 12 ч до облучения, через 10-15 минут после облучения;
- 2) хлорофилл 1:2, через 10-15 минут после облучения;
- 3) хлорофилл 1:2, за 12 ч до облучения;
- 4) контроль (препарат не вводили);
- 5) хлорофилл в разведении физраствором 1:5, за 20-30 мин. до облучения;
- 6) хлорофилл в разведении физраствором 1:5, за 20-30 мин. до и через 10-15 минут после облучения;
- 7) хлорофилл 1:5, через 15-20 минут после облучения;
- 8) хлорофилл 1:1, через 15 минут после облучения;
- 9) контроль (препарат не вводили).

Основными показателями эффективности концентрации хлорофилла служили выживаемость животных в течение 30 суток после облучения и продолжительность жизни мышей.

Результаты исследований. Результаты изучения радиозащитных свойств хлорофилла представлены в табл. 1, 2. Абсолютно смертельной дозой облучения для мышей является доза 7,83 Гр (900 Р).

Таблица 1

**Выживаемость мышей
при дозе облучения 2000 Р (17,4 Гр)**

Группа	Кол-во животных	Результат	Сутки							
			3	4	5	6	7	8	10	11
1	10	Пало			2		2		4	2
		Выжило			8		6		2	0
2	10	Пало		2		2	2		4	
		Выжило		8		6	4		0	
3	10	Пало	2		2	4		2		
		Выжило	8		6	2		0		
4	10	Пало			1	6	2			
		Выжило			8	2	0			



ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ АТФаз ЯДЕРНЫХ И ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

В результате проведенных биохимических исследований установлено, что с возрастом происходит увеличение активности Mg^{2+} -, Na^+ , K^+ -, Ca^{2+} - и HCO_3^- -АТФаз (Аденозинтрифосфатаз) цитоплазматических мембран и Mg^{2+} -, Na^+ , K^+ -, Ca^{2+} -АТФаз ядер эритроцитов цыплят-бройлеров, а активность HCO_3^- -АТФазы ядер достоверно снижается. Двухфакторным дисперсионным анализом установлены коэффициенты детерминации влияния возраста и ионного состава среды инкубации на АТФазные активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Аденозинтрифосфатаза (АТФаза), цитоплазматическая мембрана, ядро клетки, эритроциты, цыплята.

V.V. MOSYAGIN

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

AGE DYNAMICS OF ATPASE ACTIVITY OF NUCLEAR AND CYTOPLASMIC ERYTHROCYTES OF BROILER

As a result of biochemical studies revealed that with age comes an increase in the activity of Mg^{2+} -, Na^+ , K^+ -, Ca^{2+} - and HCO_3^- -ATPases (Adenozintriphosphatases) cyto-plazmaticheskikh membranes and Mg^{2+} -, Na^+ , K^+ -, Ca^{2+} -ATPase nuclei of erythrocytes of broiler chickens, and the activity of HCO_3^- -ATPase nuclei significantly reduced. Two-factor analysis of variance fixed for determination of the influence of age and the ionic composition of incubation on ATPase activity.

KEYWORDS: Adenozintriphosphatase (ATPase), cyto-plazmaticheskaya membrane, nuclei of cell, erythrocytes, chickens.

В настоящее время все более очевидной становится важная и многообразная роль ферментных систем среди различных факторов, участвующих в регуляции и интеграции процессов развития и жизненных отправления организма. На механизмах, основу которых составляют ферментные системы, базируется раскрытие в онтогенезе путей реализации наследственной информации, регуляции роста и развития, гомеостаза [7, 10, 11]. Известно, что активность этих систем зависит от степени воздействия различных факторов внешней и внутренней среды. Степень влияния этих факторов во многом определяется экзогенными и эндогенными условиями существования, оказывающими воздействие на организм, к ним относят: возраст, тип кормления, состояние гормонального фона, физиологическое состояние и др., играют ведущую роль в реализации механизмов биохимической адаптации, обеспечивающих существование организма в постоянно изменяющейся внешней среде [1, 5, 9].

Одним из основных свойств живой клетки является избирательный транспорт веществ и энергии в клетку из внешней среды, ведущую роль в котором играет активный транспорт, осуществляемый ферментными системами мембран (ионными насосами), интегральными компонентами которых являются аденозинтрифосфатазы (АТФазы). АТФ-зависимые ионные насосы, представляющие комплекс ферментов, обеспечивают как первичный транспорт катионов (H^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) и анионов

(Cl^- , HCO_3^-) против их электрохимических градиентов, так и вторично-активный перенос через мембрану в клетку сахаров, аминокислот, органических кислот за счет энергии трансмембранного градиента концентрации ионов Na^+ [6, 13, 14, 15].

В связи с этим целью исследований было изучение возрастной динамики активности АТФаз, локализованных в ядерных и цитоплазматических мембранах эритроцитов цыплят-бройлеров.

Материалы и методы. Материалом для исследования были эритроциты цыплят-бройлеров кросса «ISA» 1-40-суточного возраста, которые получали их 3-кратным отмыванием физиологическим раствором.

Для изучения АТФаз, локализованных в ядерных и цитоплазматических мембранах эритроцитов птиц, нами был разработан метод выделения этих мембран методом замораживания-оттаивания в растворе сахарозы ($\rho=1,176$), содержащем $50 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ трис- H_2SO_4 буфер (pH 7,4) с последующим центрифугированием 30 мин. при $1000 \text{ об} \cdot \text{мин}^{-1}$.

АТФазную активность определяли по приросту неорганического фосфата после инкубации при 37°C и выражали в наномолях неорганического фосфата (Фн) отщепленного 1 мг белка в 1 мин. При этом активность Mg^{2+} -АТФазы определяли в 50 mM трис- H_2SO_4 буфере (pH 7,4) содержащем 60 mM $NaCl$, 2 mM АТФ и 2 mM $MgCl_2$. Активность Na^+ , K^+ -АТФазы измеряли в той же среде, заменяя 15 mM $NaCl$ на 15 mM KCl . Ca^{2+} -АТФазную

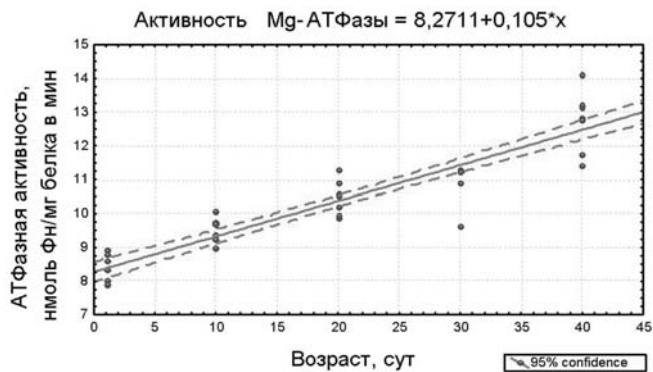


Рис. 1. Активность Mg²⁺-АТФазы цитоплазматических мембран эритроцитов цыплят-бройлеров

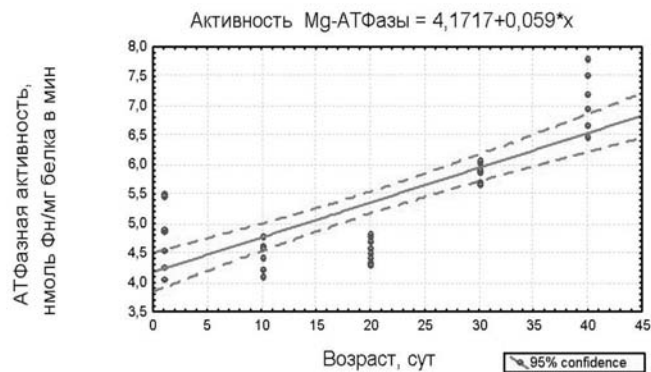


Рис. 5. Активность Mg²⁺-АТФазы ядер эритроцитов цыплят-бройлеров

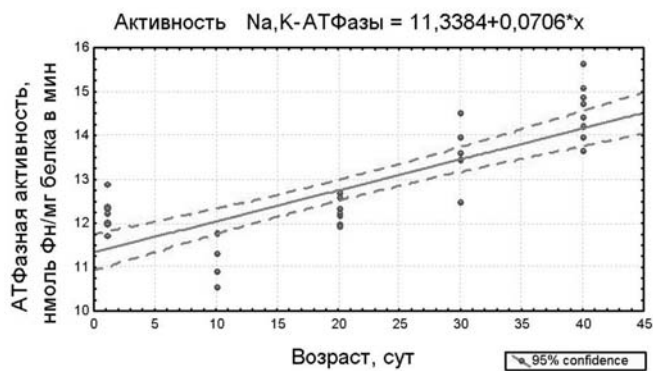


Рис. 2. Активность Na⁺,K⁺-АТФазы цитоплазматических мембран эритроцитов цыплят-бройлеров

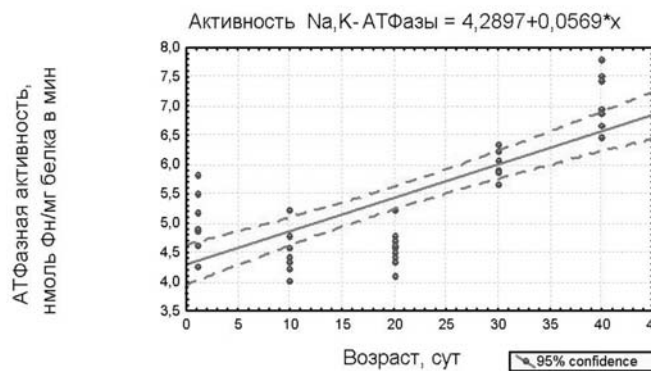


Рис. 6. Активность Na⁺,K⁺-АТФазы ядер эритроцитов цыплят-бройлеров

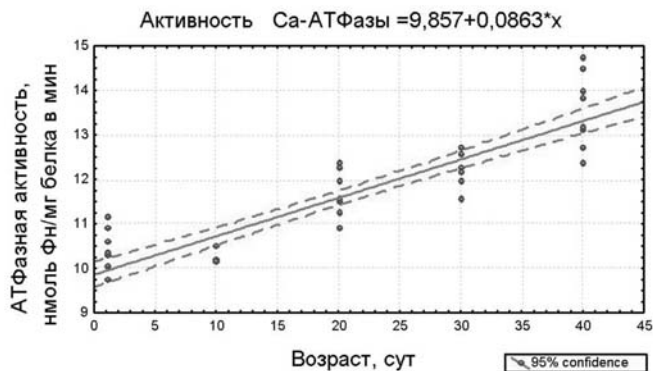


Рис. 3. Активность Ca²⁺-АТФазы цитоплазматических мембран эритроцитов цыплят-бройлеров

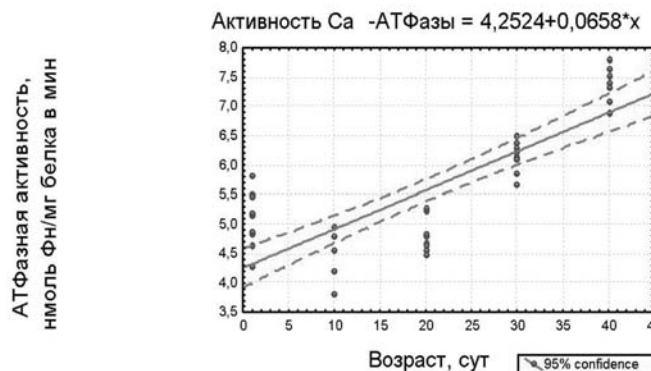


Рис. 7. Активность Ca²⁺-АТФазы цитоплазматических мембран эритроцитов цыплят-бройлеров

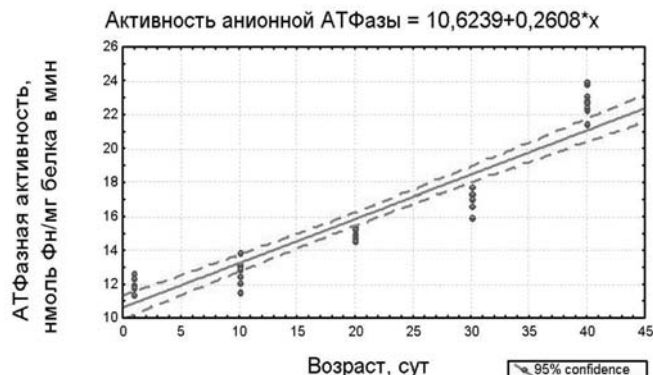


Рис. 4. Активность HCO₃⁻-АТФазы цитоплазматических мембран эритроцитов цыплят-бройлеров

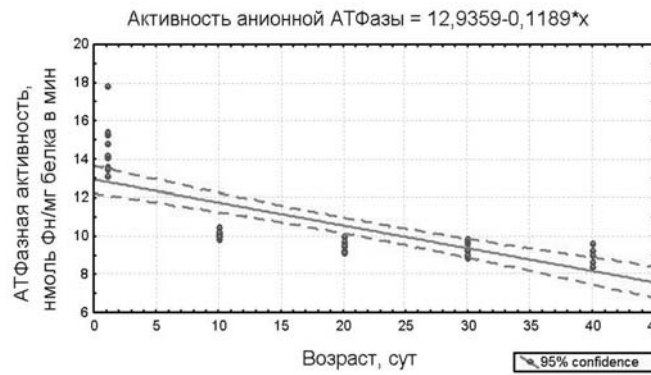


Рис. 8. Активность HCO₃⁻-АТФазы цитоплазматических мембран эритроцитов цыплят-бройлеров



активность определяли, внося в среду 5×10^{-4} М CaCl_2 . Уровень HCO_3^- -АТФазной активности оценивали по приросту неорганического фосфата при замене 30 мМ NaCl на 30 мМ NaHCO_3 [2]. Неорганический фосфат определяли спектрофотометрическим методом [4] при длине волны 390 нм, а также по методу Чена (1957) в модификации [3]. Полученные в ходе исследований данные подвергались биометрической обработке на ПЭВМ с использованием пакетов прикладных программ [8, 12].

Результаты исследований. Возрастная динамика активности АТФаз цитоплазматических и ядерных мембран эритроцитов цыплят представлена на рис. 1-8.

С целью выяснения возрастной динамики влияния ионного состава среды инкубации на активность АТФаз цитоплазматических и ядерных мембран эритроцитов цыплят-бройлеров был проведен двухфакторный дисперсионный анализ, результаты которого представлены в таблице.

В качестве независимых переменных были определены: А – возраст цыплят: 10, 20, 30 и 40 суток, Б – ионный состав среды. За нулевую точку отсчета принимали активность Mg^{2+} -АТФазы в контрольной группе.

В таблице приведены коэффициенты детерминации влияния факторов на активность АТФаз цитоплазматических мембран эритроцитов цыплят-бройлеров.

Таблица

Коэффициенты детерминации возраста и ионного состава среды инкубации на активность АТФаз (n=40)

Коэффициент детерминации	Na^+, K^+	Ca^{2+}	HCO_3^-
Цитоплазматическая мембрана			
Фактор А (возраст)	0,5480*	0,7250*	0,3610*
Фактор Б (ионный состав)	0,3450*	0,1290*	0,5230*
Ядра			
Фактор А (возраст)	0,9190*	0,9230*	0,0283*
Фактор Б (ионный состав)	0,0004	0,010*	0,8490*

* – достоверность влияния фактора ($P < 0,05$).

В результате исследований были установлены коэффициенты детерминации активности ферментов от независимых факторов.

Анализ этой таблицы показывает, что наибольшее влияние на активность АТФаз как цитоплазматических мембран, так и ядер оказывает возраст цыплят.

Изменение ионного состава среды оказывает различное влияние на АТФазы, локализованные в цитоплазматической и ядерной мембране. АТФазная активность цитоплазматической мембраны эритроцитов была на 34,5% детерминирована ионами Na^+ , K^+ , на 12,9% – ионами Ca^{2+} и на 52,3% – ионами HCO_3^- . В то же время ионы Na^+ , K^+ и Ca^{2+} практически не влияли на АТФазную активность ядер, а анион HCO_3^- детерминировал ее на 84,9%.

Заключение. Цитоплазматические и ядерные мембраны эритроцитов цыплят-бройлеров содержат

АТФазы, отличающиеся по влиянию на них ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , HCO_3^- и возраста животных. На активность АТФазы цитоплазматических мембран эритроцитов эти ионы оказывали существенное влияние. На активность АТФазы ядер достоверного влияния катионов не установлено, а активность фермента была детерминирована анионом HCO_3^- , с возрастом выявлено линейное изменение активности всех изучаемых АТФаз цитоплазматических мембран и ядер, причем для АТФаз цитоплазматических мембран был отмечен наибольший ее прирост. Активность HCO_3^- -АТФазы ядер, напротив, снижалась, что, вероятно, связано с угасанием энергообеспечивающей функции этих органоидов с возрастом. Таким образом, в цитоплазматических и ядерных мембранах эритроцитов цыплят отмечаются специфические перестройки мембранных структур, связанные с особенностями их функционирования.

Список литературы

1. Иващенко, А.Т. Выделение и свойства аниончувствительной аденозинтрифосфатазы из мембран эритроцитов / А.Т. Иващенко, И.А. Бушнева // Биохимия, 1981. – Т. 45, № 3. – С. 486-488.
2. Казеннов, А.М. Влияние стресса и ингибирования ацетилхолинэстеразы in vivo на свойства Na^+, K^+ -АТФазы эритроцитов у крыс / А.М. Казеннов, М.Н. Маслова, В.Н. Дубровский, Е.А. Скверчинская, Ф.А. Рустамов, Т.В. Тавровская // Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1999. – Т. 35, №1. – С. 29-32.
3. Кондрашова, М.Н. Метод определения неорганического фосфата по спектрам поглощения молибдатных комплексов в ультрафиолете / М.Н. Кондрашова, М.Н. Лесогорова, С.Э. Шноль // Биохимия, 1965. – Т. 30. – Вып. 3. – С. 567-562.
4. Кыров, Д.Н. Исследование модулирующих эффектов гемолизата эритроцитов на активность Na, K -АТФазы: Автореф. ... канд. биол. наук / Д.Н. Кыров. – Тюмень, 2006. – 234 с.
5. Макарова, Н.В. Статистика в Excel / Н.В. Макарова, В.Я. Трофимец // Учеб. пособие. – М.: Финансы и статистика, 2002. – 368 с.
6. Максимов, В.И. Влияние условий микроклимата на активность ферментов в организме свиней в постнатальном онтогенезе / В.И. Максимов, А.В. Паракневич, В.С. Григорьев: Материалы межд. науч.-практ. конф. «Инновационные технологии в свиноводстве». – Краснодар: Кубанский гос. аграрн. ун-т, 2008. – С. 168-171.
7. Максимов, В.И. Становление гормонального статуса тканей и органов у свиней в постнатальном онтогенезе / В.И. Максимов // Свиноводство, 1999, №4. – С. 17-21.
8. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
9. Рубцов, А.М. Са-АТФаза саркоплазматического ретикула: Молекулярная организация, механизм функционирования и особенности регуляции активности / А.М. Рубцов // Успехи биологической химии, 2005. – Т.45. – С. 235-268.

Контактная информация:
Мосягин В.В., ugnoe_nebo@list.ru



УДК 636.086.782

П.О. ЩЕГОЛЕВ, В.Ф. ПОЗДНЯКОВА, К.В. ПЕТРОВА

ФГОУ ВПО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия»

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОРЫ БЕРЕЗЫ ИЗМЕЛЬЧЕННОЙ
ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В РАЦИОН ЖИВОТНЫХ**

Авторами была проведена серия экспериментов на лабораторных животных, направленная на выявление биологического действия коры березы измельченной на биохимические показатели крови, гистологическое строение некоторых тканей, а также на поведение животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кора березы, биохимические показатели крови, гистологическое строение тканей, поведение животных.

P.O. SCHYOGOLEV, V.F. POZDNYAKOVA, K.V. PETROVA

Kostroma state agricultural academy

**BIOLOGICAL EFFECTS OF GRINDED BIRCH BARK
FOR INCLUSION IN ANIMAL DIET**

This article presents the results of experiments on laboratory mice, aimed at identifying the biological effect of grinded birch bark on biochemical indices of blood, histological structure of some tissues, as well as the behavior of animals.

KEYWORDS: birch bark, dietary supplements, laboratory mice.

В отечественной практике молочного скотоводства широко распространена ситуация, когда сложившиеся кормовые условия не покрывают потребности животных не только по отдельным веществам, но и по уровню энергии.

В настоящее время в свободной продаже имеется достаточно большое количество различных кормовых добавок, в основном представленных синтетическими белковыми, витаминными и минеральными добавками в различных комбинациях. Являясь достаточно эффективными, данные препараты в большинстве своем довольно дорогие и часто оказывают отрицательное влияние на здоровье животных. Поэтому в сложившихся условиях более перспективны такие кормовые средства, которые при своей эффективности вполне доступны большинству хозяйств. Одним из таких средств является кора березы измельченная (КБИ), которая является побочным продуктом деревообработки.

Рядом исследователей была выявлена высокая фармакологическая активность данной добавки, что объясняется наличием в ней биологически активных веществ, таких как тритерпеноиды (бетулин, В-амирин, эритродиол, лупеол, альдегид олеановой кислоты, кофеат бетулина, пиракретовая кислота и др.); фенолы и их производные; фенолкарбоновые кислоты (танин талловой кислоты); лейкоантоцианы; органические кислоты; углеводы и родственные им соединения (ксилоза, глюкоза); высшие жирные кислоты; флавоноиды; сквален, бетулапренолы (полипрокиленовые спирты С35-С45).

Установленная высокая фармакологическая активность суммы тритерпеноидов берёзовой коры (гепато-защитная, противовоспалительная, антиоксидантная, желчегонная, противомикробная, противовирусная) служит основанием для использования ее в качестве

лечебного средства в ветеринарии при диарее, диспепсии, респираторных патологиях, хронических отравлениях, острых и хронических гастроэнтеритах молодняка и взрослого поголовья крупного рогатого скота.

Дубильные вещества (фенольные соединения, биофлавоноиды), содержащиеся до 8,5%, действуют как antidotes и закрепляющие при диарее. В значительной степени обладают действием витамина Р, увеличивают сопротивляемость стенок кровеносных сосудов с одновременным сохранением и десорбцией витамина С, снимают воспаления слизистых, обладают вяжущими и антисептическими свойствами. Простые фенолы оказывают влияние на энергетику и окисление субстратов в процессе клеточного дыхания.

Кофеаты тритерпеновых спиртов, содержащиеся в берёзовой коре, обладают антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Это особенно актуально при эндогенной интоксикации у телят при диарее. В рационе лактирующих коров берёзовая кора препятствует закислению рубцового содержимого, значительно снижает образование кетонных тел в крови и риск возникновения метаболического ацидоза.

Материал и методы исследований. На кафедре внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства Костромской ГСХА была проведена серия из двух научных опытов. Опыты проводили на нелинейных белых мышах 2-месячного возраста. Основной рацион состоял из плющеного овса без шелухи (хлопья овсяные). Животным опытной группы скармливали смесь из 25 г овсяных хлопьев (83%) и 5 г КБИ (17%) на всю группу за сутки. Мышам контрольной группы скармливали 30 г основного рациона на всю группу за сутки. Обе группы животных содержали в одинаковых условиях. В ходе опыта учитывали общее состояние, особенности пове-

дения, живую массу животных в обеих группах. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что более интенсивный рост был у животных опытной группы. В конце опыта у мышей данной группы средняя живая масса 1 головы была выше на 11,2% по сравнению с контрольной группой, относительный прирост за период опыта был выше на 7,3%.

Наблюдения показали, что поедаемость корма в опытной группе была выше, чем в контрольной. Во второй половине эксперимента поведение животных опытной группы было более спокойным, возникало меньше конфликтных ситуаций, реакция на внешние (стрессовые) раздражители выражалась в меньшей степени.

Для изучения обменных процессов в организме животных по окончании опыта было отобрано по 3 мыши из каждой группы. От каждой мыши была взята кровь для биохимического анализа. Данные представлены в таблице.

Таблица

**Биохимические показатели крови
подопытных животных**

Показатель	Группа животных		
	Контрольная	Опытная	Разность контрольной и опытной групп, в % к контрольной
Общий белок, г/л	66,30	41,70	62,9
Холестерин, ммоль/л	1,70	1,60	94,1
Билирубин, мкмоль/л	3,30	2,20	66,7
Креатинин, мкмоль/л	59,00	50,60	85,8
Аланинаминотрансфераза (АлАТ), Е/л	52,60	35,90	68,3
Аспартатаминотрансфераза (АсАТ), Е/л	211	47,90	440,5
Щелочная фосфатаза, Е/л	123,00	90,50	73,6

Анализ полученных данных показывает, что содержание общего белка, холестерина, билирубина, а также активность АлАТ и щелочной фосфатазы в плазме были выше у животных контрольной группы, что свидетельствует о нарушении функций печени у мышей контрольной группы. Повышенное содержание креатинина в крови указывает на развитие почечной недостаточности у данных животных.

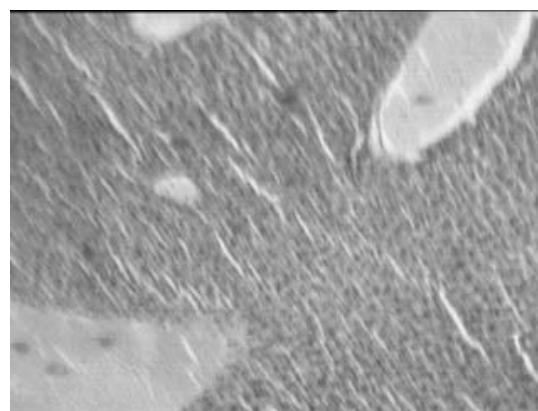
В опыте был применен стандартный тест «подвешивание за хвост», предназначенный для выявления степени стрессоустойчивости животных. Результаты исследования показывают, что больший период иммобильности наблюдался у мышей контрольной группы (327,8±37,5 с), в то время как у мышей опытной группы этот показатель находился на уровне 255,5±27,4 с. Исходя из этого, можно предположить, что более высокой стрессоустойчивостью обладали животные опытной группы.

В ходе опытов нами производились наблюдения за потреблением воды подопытными животными. При этом выяснилось, что среднесуточное потребление воды мы-

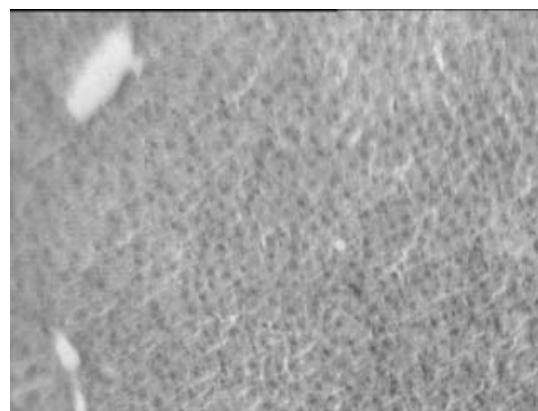
шами всей контрольной группы составило 32,3 мл, в то время как животные опытной группы потребляли в среднем 34,5 мл, а второй опытной группы – 28,1 мл воды в сутки. Различия в потреблении воды животными разных групп можно объяснить тем, что мыши опытной группы получали корм, содержащий КБИ и требующий более активного слюновыделения, а следовательно, и более высокого потребления воды.

Нами были проведены гистологические исследования препаратов печени и тонкого кишечника, взятых у подопытных животных. Препараты были изготовлены на микротоме с предварительным парафинированием.

На рис. 1 представлены фотографии гистологических срезов печени подопытных животных.



а)



б)

Рис. 1. Гистологический срез печени подопытных животных (увеличение 8×20):

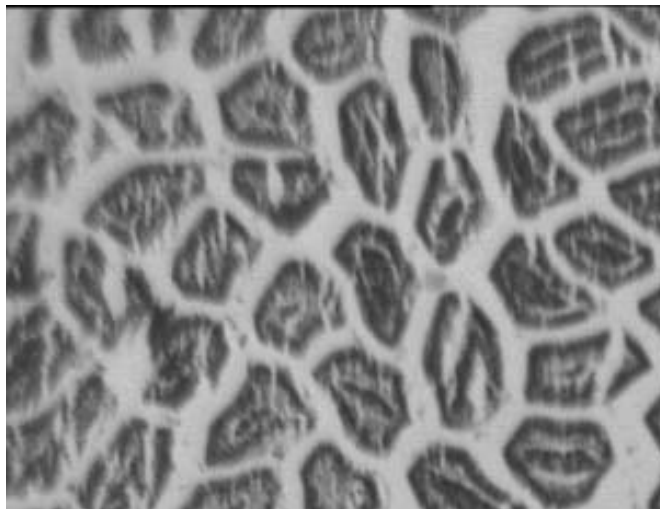
- а) печень мыши контрольной группы;
б) печень мыши опытной группы

На представленных фотографиях видно, что печень мышей контрольной группы характеризуется умеренным полнокровием паренхимы, выраженным застойным полнокровием сосудов портальных трактов (венул). При этом просматриваются гепатоциты с мелкозернистой цитоплазмой. В просветах отдельных венул портальных трактов определяется отложение плазмы от форменных элементов крови.

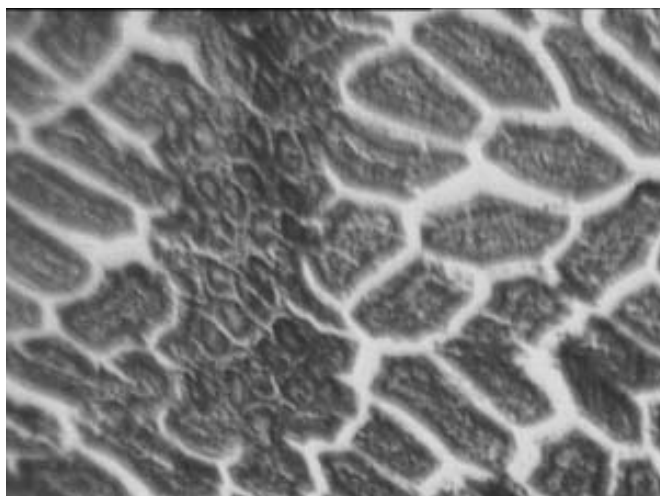
В это же время печень мышей опытной группы характеризовалась умеренным полнокровием паренхимы, гепатоцитами с нечеткими контурами и зернистой цитоплазмой. При этом видно, что сосуды портальных трактов малокровные, с широкими свободными от крови просветами.



Одновременно с этим нами были изучены препараты тонкого кишечника подопытных животных. Микрофотографии данных образцов представлены на рис. 2.



а) тонкий кишечник мыши контрольной группы



б) тонкий кишечник мыши опытной группы

Рис. 2. Микрофотографии тонкого кишечника подопытных животных (увеличение 8×20)

На обеих фотографиях наблюдаются отдельные бокаловидные клетки, подслизистая основа и серозная оболочка без отека и патологических клеточных инфильтратов.

Таким образом, патологического воздействия скормливания КБИ на микроструктуру печени и тонкого кишечника не выявлено.

Заключение. Кормовая добавка «Кора березы измельченная» оказывает положительный эффект на функции печени и почек белых мышей и уменьшает действие стресса на организм животных. Аналогичный эффект был выявлен в опытах на 5-месячных телятах, в рацион которых добавляли КБИ в дозе 0,5 г/кг живой массы.

Список литературы

1. *Василенко, Ю.К.* Фармакологические свойства тритерпеноидов коры березы / Ю.К. Василенко, В.Ф. Семенченко, Л.М. Фролова, Г.Е. Коноплева, Е.П. Парфентьева, И.В. Скульте // Экспериментальная и клиническая фармакология, 1993, № 4. – Т. 56. – С. 53-55.
2. *Молоковский, Д.С.* Фармакологическая активность отвара листьев березы бородавчатой *Betula Pebdularoth* / Д.С. Молоковский, Г.И. Дьячук // Фармакология, 2006. – Т. 7. – С. 73-93.
3. *Рапп, О.А.* Сравнительная оценка фармакологической активности экстрактов коры березы, приготовленных на этаноле различной концентрации / О.А. Рапп, В.Г. Пашинский, В.С. Чучалин // Бюлл. СО РАМН, 1997, № 4. – С. 138-142.
4. *Толстикова, Г.А.* Бетулин и его производные: Химия и биологическая активность // Г.А. Толстикова, О.Б. Флехтер, Э.Э. Шульц // Химия в интересах устойчивого развития, 2005, № 13. – С. 1-30.
5. ТУ 9199-001-50122754-2005 «Кора березы измельченная».
6. *Флехтер, О.Б.* Химические трансформации и биологическая активность лупановых тритерпеноидов / О.Б. Флехтер, Е.И. Борекко, Л.Р. Нигматуллина, Н.И. Медведева, Л.А. Бахтина, Г.А. Толстиков, Л.Т. Карачурина, Ф.З. Галин // Химия и технология растительных веществ: Мат. II всерос. конф. – Казань, 2002. – С. 25-31.
7. *Черняева, Г.Н.* Флавоноиды коры *Betula Pendula Roth.* / Г.Н. Черняева, Г.В. Пермьякова // Растит. ресурсы, 2003. – Т. 39. – Вып. 1. – С. 64-68.
8. *Эрнст, Л.К.* Кормовые продукты из отходов леса / Л.К. Эрнст, З.М. Науменко, С.И. Ладинская. – М.: Лесная промышленность, 1982. – 168 с.

Контактная информация: Шеголев П.О., bigboy25@mail.ru, тел.: +7 (905) 150-88-75



ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНО-ГНИЛОСТНЫХ ФЛЕГМОНОЗНЫХ ПОРАЖЕНИЙ В ОБЛАСТИ ГОЛОВЫ У СОБАК

В статье приведена характеристика различных способов лечения разлитых флегмонозных поражений в области головы у собак. Метод лечения посредством раневого диализа через полупроницаемую мембрану оказался более эффективным по сравнению с трубчатым дренированием.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гнойно-гнилостная флегмона, дренирование, раневой диализ, полупроницаемая мембрана.

E.L. BEZRUK

Hakas state university named N.F. Katanov, Abakan

OUR EXPERIENS IN THE TREATMENT OF SPILLED PURULENT PHLEGMON ROTTENNESS IN THE DOGS

The article comparative characteristic of different method of drainage, the treatment of spilled suppurative putrefactive phlegmon in the head of dogs. Method the treatment using the properties of semipermeable membrane for wound dialysis is more effective than tube drainage and outdrainage method of treatment.

KEYWORDS: spilled purulent phlegmon, drainage, wound dialysis, semipermeable membrane.

Основной целью лечения животных с обширными гнойно-некротическими процессами являются купирование гнойно-некротического процесса и восстановление функций организма в наиболее короткий срок. При выборе лечебных мероприятий следует учитывать стадию воспалительного процесса, вирулентность возбудителя, тип ответной реакции организма, локализацию очага поражения, вид животного, породу и возраст. При остром течении заболевания и нарастании воспалительных явлений основная задача лечения сводится к ограничению зоны распространения патологического процесса и восстановлению равновесия между очагом воспаления и организмом пациента. В этой стадии заболевания лечебные мероприятия направлены на снижение вирулентности инфекционного агента и регуляцию иммунологических реакций. Своевременная хирургическая обработка с дальнейшим дренированием ран является первоочередной задачей лечения. Одновременно с экссудатом удаляются обрывки мертвых тканей, часть микроорганизмов и их токсинов, продуктов тканевого распада, являющимися эндогенными факторами и медиаторами воспаления. При комплексном лечении ран в стадии гидратации обеспечиваем хороший отток экссудата, путем адекватного дренирования гнойной полости. Этим мы обеспечиваем снижение интоксикации организма больной собаки, помогаем бороться с инфекцией и предотвращаем развитие гнойных осложнений.

В настоящее время в ветеринарной и гуманитарной хирургии существует много способов дренирования гнойного очага. Существуют способы вакуумного дренирования, фракционного и непрерывного промывания, позволяющие проводить дозированное и целенаправленное введение лекарственных веществ в зависимости от характера воспалительного процесса,

его распространенности и стадии. Есть данные об использовании дренирующих сорбентов и волокнистых мембран [1]. Препараты, используемые в первой фазе раневого процесса, должны оказывать на рану комплексное действие: антимикробное, дегидратирующее, некролитическое, противовоспалительное, обезболивающее. Наиболее полно этим требованиям отвечают мази на водорастворимой полиэтиленоксидной основе: левомеколь, левосин, диоксиколь, ПАН и др. [2, 3]. Они вводятся непосредственно в полость раны или через трубчатый дренаж, или путем рыхлого дренирования марлевыми турундами по Микуличу. Во всех случаях имеется ряд недостатков. Непосредственное введение и дренирование трубками не обеспечивает постоянной концентрации лекарственных веществ в ране. Кроме того, из раны наряду с продуктами распада и экссудатом тотально удаляются «полезные продукты» воспаления, раневые гормоны и высокомолекулярные белки. Марлевое дренирование обеспечивает более равномерную концентрацию лекарственных веществ в ране, но требует частой замены ввиду инфицирования, а значит, нарушения покоя раны и самого больного животного. Применение раневого диализа с использованием свойств дренажных мембранных систем обеспечивает постоянное дозированное поступление лекарственных веществ в рану. При своевременной эвакуации продуктов распада и токсинов высокомолекулярные белки, раневые гормоны и ферменты не проходят сквозь поры мембраны и остаются в ране, обеспечивая благоприятное течение раневого процесса.

Материалы и методы. Нами проведена сравнительная характеристика эффективности лечения гнойно-некротических процессов в области головы и шеи собак. В качестве объектов сравнения выбраны 3



животных одной породы (шар-пей) с однотипным течением патологического процесса. У всех животных наблюдались обширные гнойно-гнилостные флегмоны в области головы в стадии абсцедирования и преобладанием альтеративных явлений, наличием признаков тяжелой формы гнойно-резорбтивной лихорадки на фоне снижения иммунологических реакций ятрогенного происхождения. Пациент №1 – «Полиграф», возраст 5 лет, с разлитой флегмоной околоушной области с обширным распространением на область шеи и лопатко-плечевую область и предплечье. Пациент №2 – «Боня», 6 месяцев, с разлитой флегмоной межжелудочного пространства с обширным распространением на вентральную область шеи, груди и плеча. Пациент №3 – «Проход», 1 год – флегмона околоушной слюнной железы с распространением в межжелудочное пространство и вентральную область шеи. Всем собакам было проведено комплексное лечение, включающее хирургическую обработку гнойного очага и медикаментозную дезинтоксикационную терапию. Хирургическая обработка выполнялась с учетом анатомо-топографических особенностей данной области связи соединительнотканых и клетчаточных пространств, породы, возраста, анамнеза заболевания и др. Всем пациентам в послеоперационном периоде применялись различные способы дренирования ран. В первом случае для лечения применены диализаты из полупроницаемых мембран, содержащие многокомпонентные растворы, обеспечивающие постоянное дозированное поступление препаратов в организм. В качестве полупроницаемой мембраны использовалась целлюлозная гофрированная оболочка с толщиной стенки 2 нм. Диализирующий раствор имел следующий состав: 100 мл полиглюкина; 5 мл имозимазы; 50 мл 1%-ного раствора диоксида и 25 мл 2%-ного раствора новокаина. Большой молекулярный вес и гипертоническая концентрация декстрана С, основы полиглюкина, обеспечивает постоянство высокого коллоидно-осмотического давления, что способствует дегидратации тканей. Диализирующий раствор вводился в систему по мере его расхода (1 раз в сутки) в течение 7 дней. Количество вводимого раствора определялось размерами гнойной полости и постепенно уменьшалось. Во втором случае применялось дренирование поливинилхлоридными трубками, через которые в полость флегмоны вводились 1%-ный раствор диоксида + 0,5%-ный раствор новокаина в соотношении 1:1. Далее в дренаж вводилась мазь левомеколь. В третьем случае применялся бездренажный метод лечения, заключающийся в промывании полости вышеназванными растворами с дальнейшим введением мази левомеколь каждые 12 часов. Для исследования динамики заживления гнойных ран проводился регулярный клинический осмотр собак с визуальной оценкой состояния ран, исследование мазков отпечатков на 1, 3-и и 7-е сутки.

Результаты и их обсуждение. Исследование мазков отпечатков показало: основным видом клеток во всех случаях в 1 сутки являются нейтрофилы с элементами распада и дегенерации. Определяется большое количество микробов с внеклеточным расположением. На третьи сутки отмечалась незначительная разница в цитограммах: в случае применения раневого диализа

количество нейтрофилов заметно уменьшилось по сравнению с активным дренированием и простым введением антисептиков. В первых двух случаях отмечается значительное внутриклеточное расположение микрофлоры, что является показателем активного фагоцитоза. В случае раневого диализа наблюдалось максимальное сокращение гнойной полости и улучшение общего состояния животных по сравнению с трубчатым дренированием и бездренажным методом. Признаки гнойно-резорбтивной лихорадки при выполнении диализа уменьшились на 3-и сутки, при дренировании и бездренажном методе – на 4. Экссудация в первых двух случаях значительно уменьшилась к 5 суткам. Дренажные системы были удалены на 7 суток. В фазу дегидратации применялось лечение, направленное на развитие грануляционной ткани и восстановление иммунного статуса животных. Во втором и третьем случаях проводилась традиционная инфузионная терапия плазмозаменителей, форсированный диурез, иммунокоррекция. В первом случае выполнять внутривенную инфузию было невозможно, и подача плазмозаменителей осуществлялась через полупроницаемую мембрану.

Заключение. Таким образом, метод лечения обширных гнойно-некротических процессов в области головы у собак с использованием свойств полупроницаемой мембраны для проведения раневого диализа в общем комплексе противовоспалительного лечения был в нашем случае более эффективным, так как обеспечил дегидратацию и фагоцитоз разрушенных тканей, дозированное введение антисептиков, плазмозаменителей, ферментов и анальгетиков в рану.

Метод лечения дренажными трубками с дальнейшим введением антисептиков обладал более умеренной дегидратирующей и некротической активностью.

Метод бездренажного лечения раны, в нашем случае, оказался менее эффективным.

Выводы

1. Применение раневого диализа через полупроницаемую мембрану в первой фазе раневого процесса, при разлитых флегмонах области головы и шеи собак, вызывает активную дегидратацию и некролиз тканей, обладает выраженной детоксикационной и сорбционной активностью.

2. Данный метод можно рекомендовать как альтернативный способ введения лекарственных веществ.

Список литературы

1. Бех Н.Д., Демченко В.В. Выбор сорбента для лечения гнойных ран: Всес. конф. «Раны и раневая инфекция». – М., 1986. – С. 152.
2. Бондаренко О.Л., Алексеев К.В. Разработка новых мазевых основ для лечения гнойных ран в первой фазе раневого процесса: Всес. конф. «Раны и раневая инфекция». – М., 1986. – С. 142-143.
3. Степанов В.А. Применение препарата «Плацента» – активное начало при лечении гнойных ран у собак: Автореф. ... канд. вет. наук. – Воронеж, 2002, 21с.
4. Шебиц Х., Брас В. Оперативная хирургия собак и кошек. – М.: Аквариум, 2007.

Контактная информация:
Е.А. Безрук, bezruk1971@mail.ru



А.В. КУЛЫРОВА, И.В. ТИХОНОВ

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА РАН КОЖИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПОМОЩИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ «ДОСО-ВОДА» И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ВЕТЕРИНАРНО-АППЛИКАЦИОННОГО СРЕДСТВА «ДОСО»

В данной статье представлены результаты исследования лечебно-профилактических качеств биологически активной минеральной воды «ДОСО-вода» и биологически активного ветеринарно-аппликационного средства «ДОСО» в отношении поверхностно-резаных, комбинированных или колото-ушибленных ран кожи сельскохозяйственных животных.

Ключевые слова: лечение ран, минеральная вода, «ДОСО».

A.V. KULYROVA, I.V. TIKHONOV

Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin

TREATMENT AND PREVENTIVE MAINTENANCE OF WOUNDS OF A SKIN OF AGRICULTURAL ANIMALS BY MEANS OF BIOLOGICALLY ACTIVE MINERAL WATER "DOSO-WATER" AND BIOLOGICALLY ACTIVE VETERINARNO-APPLIKATIONNOGO MEANS «DOCO»

In given article results of research of treatment-and-prophylactic qualities of biologically active mineral water «DOSO-VODA» and biologically active veterinary-applique means «DOSO» are presented in the relation superficial-cut, combined or stab-contusion wounds of agricultural animals.

KEYWORDS: treatment of wounds, mineral water, «DOSO».

Сельскохозяйственные животные являются основными поставщиками молока, мяса, шкуры и шерсти на протомарном рынке страны. Однако для кожевенной промышленности при получении сырья в виде кожи животных очень важно, чтобы оно было качественным и имело товарный вид, т.е. без залысин, дырочек и с одинаковой толщиной кожи для удобства и качественной выделки. Актуальная задача для производителей сельскохозяйственных животных – отсутствие повреждений кожи у животных.

Общеизвестно, что рана – открытое или закрытое механическое повреждение кожи или тканей, сопровождающееся нарушением структурной целостности. Если при повреждении совершенно отделяется от тела участок ткани, то такая рана с потерей вещества представляет дефект. Основными признаками раны являются боль, зияние и кровотечение, иногда нарушение функции (Тимофеев, 2007).

Вопрос патогенеза и лечения ран относится к числу наиболее старых проблем ветеринарной медицины и остается одной из ее основных проблем. Основные трудности в проблеме лечения ран и раневой инфекции связаны с разработкой обоснованной тактики и лечения.

В настоящее время лечение обычно проводят при помощи бактерицидных мазей наружного применения, предназначенных для заживления ран, а также растворов АСД, кирилина, дихлофоса и т.д. с пахучими веществами, основным назначением которых является отгон насекомых. Следует отметить, что почти все пахучие средства не обладают эффективным действием, т.к. их запахи быстро улетучиваются, а их химический состав, проникая через клетки в организм животных, оказывает отрицательное действие вплоть до отравления и угнетения резистентности организма. Множественные порезы кожи и раны сельскохозяйственных животных в основном получают летом. Впоследствии эти порезы и раны гноятся и часто покрываются личинками насекомых в виде белых червей, при этом наблюдается

достаточно интенсивное угнетение ЦНС и общего состояния организма, доводя животных до дистрофии. В связи с этим хозяйства ежегодно несут большие убытки в результате выбраковки животных, т.к. сокращаются сроки их хозяйственно-полезного использования, соответственно, хозяйства получают потенциально меньше животноводческой продукции, поскольку животные не успевают окупить затраты, связанные с их выращиванием. Кроме того, в период постоянного «реформирования» сельскохозяйственного производства из-за отсутствия денежных средств для многих хозяйств бактерицидные мази и другие лечебные средства остаются недоступными. Поэтому поиск альтернативных средств в ветеринарной медицине для лечения порезов и ран остается одной из **актуальных** проблем.

Целью работы являлось выявление лечебно-профилактических свойств донных осадков содовых озер Забайкалья относительно излечиваемости порезов и ран на теле сельскохозяйственных животных – овец, коз и крупного рогатого скота.

В **задачи** исследования входила оценка лечебной эффективности донных осадков с содовых озер Забайкалья («ДОСО» – ТУ 9365-001-00497182-2008) при применении в виде аппликации порезов и ран на коже у животных в сравнительном аспекте с мазями, содержащими антибиотики; воды с содовых озер Забайкалья («ДОСО-вода» – ТУ 9337-002-00497182-2009) при применении в виде асептического раствора в сравнительном аспекте с раствором перманганата калия.

Объект исследования: донные осадки (биологически активное ветеринарно-аппликационное средство «ДОСО» для сельскохозяйственных животных (ТУ 9365-001-00497182-2008) и минеральная вода (биологически активная минеральная вода «ДОСО-вода» для животных – ТУ 9337-002-00497182-2009) с содовых озер Забайкалья.

Исследования по установлению лечебно-профилактических свойств донных осадков содовых озер Забайкалья были проведены на животных в хозяйствах



Забайкальского края (Россия). Для участия в эксперименте были отобраны козوماتки и овцематки с порезами кожи после стрижки шерсти, также коровы с ранами около входа во влагалище. Овцематки мясощерстной породы в возрасте 2-6 лет – 400 голов, козы молочной породы в возрасте 2-5 лет – 40 гол. и разновозрастные коровы в количестве 40 гол. Перед началом исследовательской работы коровы, овцы и козы были разделены на 2 группы: контрольную и опытную.

Донные осадки (маслянистой консистенции от черного до серого цвета) отбирались с содовых озер в металлические бидоны (40 л) с вложенным вовнутрь целлофаном, в закрытом состоянии их перевозили в хранилища с температурой не выше 10°C, проверяли на соответствие ТУ 9365-001-00497182-2008 и ТУ 9337-002-00497182-2009 и оставляли на хранение.

Методы лечения. Раны животных контрольной группы лечили стрептомициновой и синтомициновой мазями, предварительно их очищали и промывали раствором перманганата калия.

Раны животных экспериментальных групп лечили донными осадками и водой из содовых озер. Донные осадки после очистки и промывки ран («ДОСО-вода» накладывали в виде аппликаций 2-5 мм слоем на порезы и раны кожи). Процедуры проводили ежедневно утром и вечером до выздоровления животных в течение 14 суток.

Результаты исследования. Лечение проводили согласно выше описанной методике. Результаты исследования фиксировались визуально по полному заживлению раны и самостоятельного отпадания струпа (табл.).

При лечении донными осадками и минеральной водой из содовых озер наиболее высокий процент заживления ран в установленные сроки (14 дней) наблюдался в экспериментальных группах овцематок – до 98%, несколько ниже у коз и коров – до 90%.

В контрольных группах в установленные сроки (14 дней) процент заживления ран у овец и коз составил до 90%, а у коров – до 80%.

Клиническая характеристика раневого процесса у коров, коз и овцематок. Постановка диагноза осуществлялась клинически по наличию раны и характеру ее заживления.

При визуальном наблюдении за ранеными животными было установлено изменение поведения, в частности, у тех, у кого были открытые кровоточащие раны, обычно имелись следы запекшейся крови ниже раны или темные кровяные корочки с гнилостным запахом. Если в этих ранах заводились черви, то обычно животные становились раздражительными или излишне подвижными, или, наоборот, старались продолжительное время лежать земле или потереться ранкой обо что-нибудь твердое. При продолжительном незаживлении раны они испытывали постоянный дискомфорт и стресс, начинали терять аппетит и вес. Диагностику порезов и ран кожи животных проводили визуально путем осмотра.

У коз и овцематок раны, т.е. дефекты кожи, были получены во время стрижки шерсти в виде порезов кожи ножами от электростригальной машинки или ножницами, в частности, при повреждении совершенно отделялся от тела участок кожи (ткани). Эти раны, полученные во время стрижки, шерсти можно классифицировать как поверхностно-резаные (порезы), при которых повреждение тканей ограничивается в основном кожей и подкожной клетчаткой, т.е. они имели только ровные края и не глубокое дно. У коров раны имелись в основном около входа во влагалище, их можно квалифицировать как комбинированные или колото-ушибленные раны, обычно причиняемые рогами животных или же предметами с острыми концами, т.е. раны имели ровные края, стенку и довольно глубокое дно.

Основными симптомами раны на коже и около входа во влагалище животных были зияние (расхождение краев и стен раны) и кровотечение. Также имелись на теле следы от запекшихся крови (ниже раны) с гнилостным запахом. В летнее время как поверхностно-резаные, так и комбинированные или колото-ушибленные раны покрывались личинками мух – белыми червями, а также кровоточили и гноились. Образование гноя в ранах у животных происходило из-за устойчивого повышения кислотности и набухания тканевых коллоидов, что в свою очередь обуславливало в раневой среде декомпенсированный ацидоз.

Повышение кислотности в ранах происходило в результате травмы сосудов, застоя крови, местной асфиксии, накопления углекислого газа, уменьшения притока кислорода тканям. Кроме того, наблюдались изменения в тканевом обмене вследствие неполного окисления продуктов распада тканевого белка и жиров в зоне раневого канала и травматического некроза некоторых клеток в воспалительном очаге. Это свою очередь приводило к образованию следующих органических кислот: молочной, масляной, нуклеиновой, пара-аминобензойной, аденилфосфорной, аминокислот, различных жирных кислот, углекислоты и т.д. в раневой среде. Соответственно, чем больше накапливалось кислот в ранах, тем меньше организм был способен освобождаться от них, поэтому скорее и сильнее происходили сдвиги активной реакции раневой среды в кислую сторону. В результате происходило нарушение pH среды в раневой среде, что приводило к повышению концентрации водородных ионов. Все это способствовало развитию в ранах гиперемии, вызывая резкие нарушения тканевого обмена, изменению активности ферментативных процессов, развитию дегенеративных изменений, некрозу клеток и тканей, отравлению организма ядовитыми продуктами распада тканевого белка и угнетению иммунологических реакций. В результате в раневой среде pH падает ниже 6 и начинается процесс образования гноя.

Механизм заживления раны. При наложении донных осадков в виде аппликации на неинфицированные раны животных процесс заживления начинался фактически с момента остановки кровотечения, а на инфицированные раны – после исключения в раневой среде декомпенсированного ацидоза.

Для исключения в раневой среде декомпенсированного ацидоза сначала промывали рану раствором «ДОСО – вода», затем накладывали в виде аппликации «ДОСО». Только после промывания раствором «ДОСО – вода» и наложения аппликации из «ДОСО» происходило устойчивое изменение pH среды в раневой среде с кислого на нейтрально-слабощелочную, а затем «ДОСО» подсыхало и образовывало своего рода искусственный или ложный струп.

В раневой среде при отсутствии инфекции заживление под искусственным струпом происходило без образования гноя, а при продолжительном образовании гноя в инфицированных ранах вышеописанную процедуру повторяли несколько раз в день в течение нескольких дней, до исключения ацидоза.

При заживлении раны под искусственным или ложным струпом происходило образование новой кожной эпителии между грануляционной тканью и массой свернувшегося фибрина. Сгустки фибрина, содержащие остатки эритроцитов, обломки фибрилы местной ткани и лейкоцитов, довольно долго сохраняли связь с кожным эпителием, таким образом, происходило образование истинного струпа. Связь с кожным эпителием нарушалась по мере того, как эпителиальные клетки превращались в многослойный ороговевший эпителий-струп. По окончании эпидермизации в ране вновь образо-



Результаты исследования по заживлению ран на теле животных

Группа, кол-во голов	Лечение, сут.	Вид лечения	Схема лечения	Выздоровело голов, %
Козы				
Контроль – 10 голов	10-14	Антибиотики-мази	Аппликации стрептомициновой и синтомициновой мазями. Ежедневные промывания ран раствором перманганата калия в первой половине дня.	80
1-я опытная группа – 10 голов	10-14	Донные осадки	Ежедневные промывания ран природной водой из озера до аппликации донными осадками, производятся 1 раз в сутки в первой половине дня.	90
2-я опытная группа – 10 голов	10-14	Донные осадки	Ежедневные аппликации ран донными осадками в первой половине дня 1 раз в сутки и промывания ран кипяченой водой до аппликации.	80
3-я опытная группа – 10 голов	10-14	Донные осадки	Ежедневные аппликации ран донными осадками в первой половине дня 1 раз в сутки и обмывания ран раствором перманганата калия до аппликации.	80
Овцы				
Контроль – 100 голов	10-14	Антибиотики	Аппликации стрептомициновой и синтомициновой мазями. Ежедневные промывания ран раствором перманганата калия в первой половине дня.	90
1-я опытная группа – 100 гол.	10-14	Донные осадки	Ежедневные промывания ран природной водой из озера до аппликации донными осадками, производятся 1 раз в сутки в первой половине дня.	98
2-я опытная группа – 100 гол.	10-14	Донные осадки	Ежедневные аппликации ран донными осадками в первой половине дня 1 раз в сутки и промывания ран кипяченой водой до аппликации.	93
3-я опытная группа – 100 гол.	10-14	Донные осадки	Ежедневные аппликации ран донными осадками в первой половине дня 1 раз в сутки и промывания ран раствором перманганата калия до аппликации.	91
Коровы				
Контроль – 10 голов	10-14	Антибиотики	Аппликации стрептомициновой и синтомициновой мазями. Ежедневные промывания ран раствором перманганата калия в первой половине дня.	80
1-я опытная группа – 10 голов	10-14	Донные осадки	Ежедневные промывания ран природной водой из озера до аппликации донными осадками, производятся 1 раз в сутки в первой половине дня.	90
2-я опытная группа – 10 голов	10-14	Донные осадки	Ежедневные аппликации ран донными осадками в первой половине дня 1 раз в сутки и промывания ран кипяченой водой до аппликации.	90
3-я опытная группа – 10 голов	10-14	Донные осадки	Ежедневные аппликации ран донными осадками в первой половине дня 1 раз в сутки и промывания ран раствором перманганата калия до аппликации.	80

вавшийся многослойный ороговевший струп отпадал самостоятельно вместе с поверхностными ороговевшими эпителиальными чешуйками, поэтому не стоит этот струп удалять насильственно.

Изменение pH среды в инфицированных и гнойных ранах начиналось с момента промывания раны водой из содовых озер, т.е. происходило изменение pH раневой среде с кислого (5,3-6,5) на нормальный (6,9-7,5) или слабощелочной (7,6-8,9), что приводило к исключению ацидоза.

В дальнейшем при наложении аппликации из «ДОСО» на рану под действием щелочной среды происходило дополнительное закрепление pH среды в сторону щелочной реакции, поэтому полностью приостанавливался и в дальнейшем исключался ацидоз. При исключении ацидоза происходило преобладание сегментоядерных лейкоцитов-микрофагов, соответственно их фагоцитарная деятельность способствовала заживлению раны и приостанавливала образование гноя.

Содержание в «ДОСО» и «ДОСО – вода» биологически активных макро- и микроэлементов, таких как калий, натрий, сера, цинк, железо, и микроорганизмов – алкалофилов, таких как метаногены, которые вырабатывают витамины группы В, способствовало ускоренному заживлению раны за счет роста и обновления кожи и восстановлению волосяного покрова. Для эффективности целесообразнее использовать «ДОСО» и «ДОСО – вода» с pH выше 8.

Исследования показали, что в сравнительном аспекте раны, полученные в результате пореза электростригальной машинкой или ножницами, заживают быстрее, чем комбинированные или колото-ушибленные раны. Кроме того, наиболее быстро заживают неглубокие, хотя и обширные раны, чем глубокие и рваные.

Итак, экспериментальным путем было установлено, что «ДОСО» и «ДОСО – вода» с pH выше 8 эффективно излечивают как поверхностно-резаные, так и комбинированные или колото-ушибленные раны. Кроме того, в сравнительном аспекте наиболее высокий процент заживляемости ран на теле животных наблюдается при лечении «ДОСО», чем мазями с антибиотиками, а использование «ДОСО – вода» как асептического раствора при порезах и других кровоточащих травмах кожи животных эффективнее, чем раствор перманганата калия.

Выводы. Эффективность использования «ДОСО» и «ДОСО – вода» обусловлена следующим:

- «ДОСО» образует струп и способствует изменению pH раневой среды, что исключает ацидоз и приводит к быстрой эпидермизации кожи;
- «ДОСО – вода» способствует изменению pH раневой среды в сторону щелочности и тем самым исключает ацидоз;
- «ДОСО» и «ДОСО – вода» в своем составе имеют биологически активные вещества в сочетании с алкалофилами, что способствуют ускорению заживления раны.

Учитывая отмеченное, «ДОСО» следует рекомендовать как ранозаживляющее средство, а «ДОСО – вода» – в виде асептического раствора при порезах и других кровоточащих травмах кожи животных.

Список литературы

1. Кулырова А.В., Тихонов И.В. О возможности применения донных осадков содовых озер Забайкалья в сельском хозяйстве на примере озера Горбунка (Забайкальский край) // Ветеринарная медицина. – М., 2009, №1-2. – С. 44-48.
2. Тимофеев С.В. Раны и их лечение у животных. – М., 2007, 27 с.

Контактная информация:

Кулырова Анна Валерьевна, 8(926)767-40-85