

СОДЕРЖАНИЕ

АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ И БИОТЕХНИКА
РЕПРОДУКЦИИ ЖИВОТНЫХ

<i>О.И. Ванюкова</i> ВОЗМОЖНОСТЬ СОХРАНЕНИЯ СПЕРМЫ БАРАНОВ ПРИ ПЛЮСОВОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ +2...+5°C	3
<i>А.М. Хуранов, Б.Г. Панков</i> ФАРМАКОПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СУБИНВОЛЮЦИИ МАТКИ У КОРОВ	6

БИОТЕХНОЛОГИЯ

<i>А.В. Бакулина, С.В. Дармова, В.М. Бакулин</i> БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РИСКИ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ И ОРГАНИЗМОВ	9
<i>М.К. Бакулин, С.В. Дармова, Ю.С. Овсянников, В.М. Бакулин, Е.М. Гордеева</i> ИЗМЕНЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА FUSARIUM ПОД ВЛИЯНИЕМ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ	12

<i>М.К. Бакулин, С.В. Дармова, В.М. Бакулин, Ю.С. Овсянников, В.В. Шведов</i> ИНТЕНСИФИКАЦИЯ БИОСИНТЕЗА ДАУНОРУБИЦИНА И РОСТА STREPTOMYCES PURPUREOGENISCLEROTICUS ПОД ВЛИЯНИЕМ ПЕРФТОР-1,3-ДИМЕТИЛЦИКЛОГЕНСАНА	16
<i>М.К. Бакулин, С.В. Дармова, Е.М. Гордеева, В.М. Бакулин</i> МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОЛЛЕКТОРЫ ФИТОНЦИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ	19

<i>И.В. Тихонов, Ю.С. Овсянников, В.Е. Романов</i> ТЕХНОЛОГИЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ СТАБИЛИЗИРОВАННОЙ РАБОЧЕЙ КУЛЬТУРЫ В КАЧЕСТВЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	23
--	----

БИОХИМИЯ

<i>М.С. Бартов, С.Ю. Зайцев</i> МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ФОТОАКТИВИРУЕМЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С ЛИПИДНЫМ БИСЛОЕМ АНАЛОГА ЛЕЦИТИНА	26
<i>С.Л. Богза, С.Ю. Суйков, С.Ю. Зайцев</i> НОВЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СТРУКТУРЫ С 2,3-БЕНЗОБЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫМИ ФРАГМЕНТАМИ	29

<i>С.Ю. Зайцев, М.Н. Шапошников, Е.В. Свирицкая</i> ОКРАШИВАНИЕ КЛЕТОК НОВЫМИ ФОТОАКТИВИРУЕМЫМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМИ КРАСИТЕЛЯМИ	32
<i>Е.Ю. Федорова, В.В. Мосягин, В.И. Максимов</i> АТФАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ МОЛОКА КОРОВ РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД	35

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА

<i>Н.Н. Седегова, А.Т. Волков, Н.Н. Трапезникова</i> ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВЕЖЕСТИ РЕАЛИЗУЕМОГО ЖИРА	38
<i>Ю.А. Юсуфов, Е.Н. Милаев, М.Н. Мирзаев, О.А. Зиновьев</i> ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСА ОВЕЦ, ОБРАБОТАННЫХ ПРЕПАРАТОМ НИАЦИД-ПЛУС ПРИ СМЕШАННЫХ ИНВАЗИЯХ	40

ИММУНОЛОГИЯ

<i>С.Ю. Смоленцев, К.Х. Папуниди</i> ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ В СОЧЕТАНИИ С МИНЕРАЛЬНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ИММУНИТЕТА КОРОВ	42
---	----

ОНКОЛОГИЯ

<i>М.Н. Якунина, Е.М. Трещалина, В.А. Голубева, А.А. Шимширт</i> АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У СОБАК И КОШЕК	44
--	----

ПАРАЗИТОЛОГИЯ

<i>Г.Д. Исмаилов, Г.Г. Фаталиев</i> ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МОНИЕЗИОЗА ДИКИХ И ДОМАШНИХ ПАРНОКОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ АЗЕРБАЙДЖАНА ...	47
--	----

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

<i>В.Н. Байматов, А.В. Метелёв, В.Е. Романова</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕНТГЕНО-КОНТРАСТНОГО И УЛЬТРАЗВУКОВОГО МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ ПОЧЕК И МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У КОШЕК И СОБАК	49
<i>В.Е. Романова</i> ПРИМЕНЕНИЕ ГЕМОДИАЛИЗА У СОБАК ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ	51

ПТИЦЕВОДСТВО

<i>Э.С. Маилян</i> ХРУЩАН – СКРЫТАЯ УГРОЗА В ПТИЦЕВОДСТВЕ	53
<i>Н.М. Малова, Б.Ф. Бессарабов</i> ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ЛИГНОГУМАТ КАЛИЕВЫЙ КД» НА РАЗВИТИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЦЫПЛЯТ КРОССА КАЙСЕКС КОРИЧНЕВЫЙ	60

Научно-практический журнал
«Ветеринарная медицина» №3-4 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: *Л.Ф. Волкова*
Ю.Д. Девришова

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;

Зайцев Сергей Юрьевич – доктор
биол. наук, доктор хим. 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 Микаиль 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 – доктор
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: veterinary_medicine@mail.ru,
tixonov_iv@mail.ru, vetmed@agrovvet.ru,**

Рукописи не возвращаются и не редактируются.

Подписано в печать 15.09.2010 г.

Формат 60×90 1/8, печать офсетная.

Заказ №271, тираж 3000 экз.

© «Ветеринарная медицина», 2010 г.



А.А. Писаренко, Б.Ф. Бессарабов, В.А. Остапенко
МЕРОПРИЯТИЯ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ СОХРАННОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ДИКИХ ПТИЦ:
ДЕЗИНФЕКЦИЯ, ИСКУССТВЕННАЯ ИНКУБАЦИЯ ЯИЦ В УСЛОВИЯХ ТРАНСПОРТИРОВКИ. 63

РАДИОБИОЛОГИЯ

А.В. Поздеев, В.К. Промоненков, Н.П. Лысенко, И.В. Тихонов
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ КУРКУМЫ
В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО РАДИОПРОТЕКТОРА.....68

ТОКСИКОЛОГИЯ

С.Н. Варнаевский, А.А. Дельцов, Д.Н. Уразаев
ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ СЕДИМИНА-Fe+ И СЕДИМИНА-SE+ 70

Ю.Ю. Вихирев
ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АММИАКА НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ
ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ОТРАВЛЕНИИ.....72

М.В. Малиновская
ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ЛЕВАМИЗОЛА И ЕГО ТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ
НА ОРГАНИЗМ ОВЕЦ74

ФИЗИОЛОГИЯ

Е.В. Бартусевич, И.М. Рощевская
СОКРАТИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА ТЕЛЯТ76

А.С. Гуляева, И.М. Рощевская
ФОРМИРОВАНИЕ ОБЛАСТЕЙ НАЧАЛЬНОЙ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ
В ЛЕВОМ ЖЕЛУДОЧКЕ СЕРДЦА СВИНЬИ.....77

Л.Г. Дыдаева, В.И. Максимова
ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРАСНОЙ КРОВИ
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ.....80

А.Н. Иванова, М.П. Рощевский
ИССЛЕДОВАНИЯ О.Д. ВОЛЛЕРА В ОБЛАСТИ ЭЛЕКТРОКАРДИОЛОГИИ.....83

Т.В. Ипполитова, Ю.А. Хомутичкина
ОСОБЕННОСТИ А-РИТМА У ЩЕНКОВ НЕМЕЦКОЙ ОВЧАРКИ
В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ.....84

Н.Х. Мамаев, И.Н. Джамалудинова, М.С. Анаев,
Р.А. Абдуллаев, Э.М. Мамедова

ВЛИЯНИЕ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ПРОБИОТИКА «МЕКЦИНА» НА
МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ СЫВОРОТКИ КРОВИ КОРОВ. 87

С.Л. Смирнова, Н.Л. Коломеец, М.П. Рощевский, И.М. Рощевская
ФОРМИРОВАНИЕ ОБЛАСТЕЙ НАЧАЛЬНОЙ ПРЕДСЕРДНОЙ АКТИВНОСТИ
НА ЭПИКАРДЕ ПРЕДСЕРДИЙ КОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ С РАЗНОЙ
ЧАСТОТОЙ СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ89

О.В. Суслонина, И.М. Рощевская
АРХИТЕКТУРИКА РАБОЧЕГО МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА КРЫСЫ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЫЗВАННОЙ РЕНОВАСКУЛЯРНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ...92

Т.А. Пурхани
ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ЧЕРЕПНЫЕ ПАЗУХИ БУЙВОЛОВ.....94

И.К. Тагиев
ВЛИЯНИЕ СМЕСИ ХЛОРИСТОГО КОБАЛЬТА И СЕРНИСТОЙ МЕДИ
НА ЭРИТРОГРАММЫ КРОВИ ЯГНЯТ95

ХИРУРГИЯ

Ф.В. Шакирова
МОРФОДИНАМИКА РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ У СОБАК
В УСЛОВИЯХ ЧРЕСКОСТНОГО ОСТЕОСИНТЕЗА ЦИТОЛОГИЯ И ГИСТОЛОГИЯ98

В.Б. Борисевич, Б.В. Борисевич, В.А. Дорошук,
С.М. Ткаченко, Д.Ю. Литвиненко

НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЕ ЛОВУШКИ100

Е.И. Кульнева, Д.А. Девришов, А.С. Тепляшин, С.В. Коржикова
ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК, ПОДОБНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫМ МЕЗЕНХИМНЫМ
СТРОМАЛЬНЫМ КЛЕТКАМ, ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ КОСТНОГО МОЗГА ОВЦЫ.....102

Е.И. Кульнева, С.В. Коржикова, А.С. Тепляшин, Д.А. Девришов
ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДИПОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ММСК,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОСТНОГО МОЗГА ОВЦЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ
СРЕД С РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ИНДУКТОРОВ.....104

Е.Ю. Складнева
АНАТОМО-ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГИОНАРНЫХ
ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ КОШЕК.....106

ЭКОЛОГИЯ

А.В. Кульрова
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКОСИСТЕМЫ СОДОВЫХ ОЗЕР ЗАБАЙКАЛЬЯ
В ЭКОНОМИКЕ РЕГИОНОВ108

А.В. Кульрова
МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ СЕРОВОДОРОДА В ДОННЫХ ОСАДКАХ СОДОВЫХ
ОЗЕР ЗАБАЙКАЛЬЯ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ.....110

Е.Е. Пурто
НАНОТЕХНОЛОГИИ И ЭКОЛОГИЯ.....112

УДК 636.3.082.453.53

О.И. ВАНЮКОВА

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

ВОЗМОЖНОСТЬ СОХРАНЕНИЯ СПЕРМЫ БАРАНОВ ПРИ ПЛЮСОВОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ +2...+5°C

В результате исследований установлена возможность сохранения спермы баранов при температуре +2...+5°C в бытовом холодильнике в течение 5 суток. Сперму необходимо разбавлять глюкозо-цитратно-желточной средой с добавлением изотонического раствора лимонной кислоты и иммуномодулятора «Иммуномакс». Это способствует сохранению высокой выживаемости и активности спермиев, их повышенной резистентности, высокой интенсивности дыхания и значительно большему содержанию процента живых спермиев при их хранении в указанных условиях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бараны, сперма, органические кислоты, оплодотворяемость.

O.I. VANYUKOVA

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

THE POSSIBILITY OF PRESERVING RAM SEMEN AT THE TEMPERATURE OF +2...+5°C

The research ascertained the possibility of preserving ram semen in a household refrigerator at the temperature of +2...+5°C for 5 days. The semen must be diluted with glucose-citrate-vitelline medium with an addition of isotonic solution of citric acid and the Immunomax immune response modifier. That helps to achieve a higher survival rate, better mobility, enhanced resistance and more intensive respiration of the spermatozooids, as well as a considerably higher percentage of live spermatozooids when storing the semen in the stated conditions.

KEYWORDS: rams, semen, organic acids, conception rate.

Анализ многочисленных литературных данных указывает, что условия, определяющие длительное сохранение спермиев в организме производителей, обусловлены следующими факторами:

- пониженная температура внутри семенников вследствие терморегулирующей функции мошонки;
- слабокислая реакция и высокая буферность содержимого придатка семенника.

Основные закономерности сохранения спермиев производителей без охлаждения в условиях кислотной инактивации были научно обоснованы советскими исследователями в 30-40-х годах (В.К. Милованов, 1933, 1934; Х.Х. Хабибуллин, 1940, 1941; Н.П. Хронопуло, 1940; И.Х. Хабибуллин, 1964; В.В. Зайцев, 1998; В.В. Тарабрин,



Акушерство

2002, 2006; С.М. Борунова, 2007; И.А. Порфирьев, А.М. Петров, 2009 и др.).

В классических работах Т. Манна (1951) было установлено, что высокая положительная активность изотонического раствора лимонной кислоты на спермии объясняется тем, что содержание лимонной кислоты в сперме быков и баранов более чем в пять раз превышает содержание других органических кислот вместе взятых (молочной, янтарной, муравьиной, яблочной, пропионовой, уксусной и др.).

Целью наших исследований была разработка эффективного метода сохранения спермы баранов при температуре +2...+5°C с использованием для активации спермиев изотонических растворов органических кислот и кислого пептидогликана.

Для реализации данной цели были поставлены следующие задачи:

- изучить выживаемость спермиев баранов в глюкозо-цитратно-желточной и глюкозо-фосфатно-желточной средах;

- изучить выживаемость спермиев при различных температурах реакций среды (рН), а также при добавлении в среду изотонических растворов различных органических кислот – щавелевой, лимонной, винной, яблочной и янтарной;

- изучить интенсивность дыхания, содержание живых и мертвых спермиев, а также их резистентность в зависимости от воздействия изотонических растворов различных органических кислот;

- изучить влияние синтетических сред с добавлением изотонических растворов органических кислот на оплодотворяемость овцематок и получение приплода.

Материалы и методы исследований

Для экспериментальных исследований были сформированы две группы баранов-производителей. Опытная группа – 7 голов помесных баранов-производителей в возрасте 1,5-2 лет, их сперму разбавляли глюкозо-цитратно-желточной средой. Контрольная группа – 7 голов помесных баранов-производителей, их сперму разбавляли глюкозо-фосфатной средой. В каждую из сред добавляли по 100 ЕД кислого пептидогликана «Иммуномакс». Разбавленную сперму хранили в пробирках, накрытых одним слоем марли в бытовом холодильнике при температуре +2...+5°C.

Семя от баранов брали ежедневно и оценивали по следующим показателям: объем, концентрация, активность и резистентность. В опыт хранения допускали эякуляты с активностью не менее 90% поступательно-подвижных спермиев, концентрацией не ниже 2,5 млрд в 1 мл и резистентностью более 20 тысяч. Во всех опытах сперму разбавляли соответствующими средами в соотношении 1:2–1:3. Ежедневно в течение 5 суток оценивали активность сохраненной спермы в баллах и вычисляли абсолютный показатель ее живучести.

Активность спермиев определяли по методике И.И. Соколовской (1960); резистентность спермиев – по В.К. Милованову, А.И. Коротковой (1951); абсолютную выживаемость спермиев – по В.К. Милованову (1932); интенсивность дыхания спермиев – по Н.П. Шергину (1967); процент живых и мертвых спермиев – по В.П. Гончарову, З.И. Гришиной, Д.А. Черепяхину (2007). Определение рН проводили универсальным ионометром ЭВ-74.

Результаты исследований

Таблица 1

Динамика выживаемости спермиев баранов в зависимости от состава синтетической среды

Условия опыта	Активность спермиев в баллах при хранении, сут.						
	1	2	3	4	5		
Наименование среды	Добавлено лимонной кислоты до рН	Температура хранения семени					
Глюкозо-фосфатно-желточная	6,7	+2...+5°C	0,63±0,16	0,53±0,14	0,58±0,08	0	0
Глюкозо-цитратно-желточная	6,7	+2...+5°C	0,78±0,08	0,70±0,05	0,66±0,11	0,62±0,08	0,58±0,12

Из табл. 1 видно, что среда, включающая цитратный буфер, способствует более длительному сохранению жизнеспособности спермиев, чем среда, включающая фосфатный разбавитель.

Так, в глюкозо-цитратно-желточной среде спермии сохраняли свою жизнеспособность при +2...+5°C в течение 5 суток при их хранении в бытовом холодильнике, тогда как спермии в глюкозо-фосфатно-желточной среде к концу 3-х суток существенно утрачивали свою активность при аналогичном их хранении при температуре +2...+5°C в бытовом холодильнике.

Следовательно, в цитратной среде оплодотворяющая способность спермиев сохраняется 5 суток, тогда как в фосфатной среде всего 2-3 суток. Надо полагать, что в фосфатной среде происходит более интенсивный процесс гликолиза, который и приводит к более ранней их гибели.

Таблица 2

Выживаемость спермиев баранов в зависимости от воздействия органических кислот при рН=6,7

Наименование кислоты	Активность спермиев в баллах при хранении при +2...+5°C, сут.				
	1-е	2-е	3-е	4-е	5-е
Щавелевая	0,81±0,15	0,75±0,20	0,66±0,18	0,60±0,11	0,46±0,28
Лимонная	0,89±0,09	0,81±0,14	0,79±0,12	0,71±0,14	0,69±0,16
Винная	0,78±0,12	0,70±0,17	0,61±0,29	0,51±0,09	0
Яблочная	0,74±0,15	0,68±0,13	0,63±0,20	0,50±0,16	0
Янтарная	0,85±0,08	0,78±0,10	0,72±0,13	0,63±0,12	0,49±0,27
Лимонная + «Иммуномакс»	0,96±0,03	0,81±0,07	0,81±0,06	0,77±0,04	0,66±0,12



Из табл. 2 видно, что в среде с pH=6,7, содержащей ионы лимонной кислоты, спермии с показателями активности свыше 60% сохраняются до 96 часов, тогда как в среде, подкисленной винной и яблочной кислотами, их аналогичная активность сохраняется до 72 часов.

Следует отметить тот факт, что активность спермиев значительно выше в глюкозо-цитратно-желточной среде с добавлением изотонического раствора лимонной кислоты с добавлением препарата «Иммуномакс». Вероятно, что комплексное воздействие ионов вышеуказанных кислот благотворно влияет на жизнеспособность спермиев.

В процессе экспериментальных исследований, проведенных нами, также была установлена высокая активность спермы при ее хранении при температуре +2...+5°C в среде с добавлением изотонического раствора лимонной кислоты. Активность спермиев составляла в 1-е сутки 100%, 2-е – 99,6±0,08; 3-и – 92,2±0,20; 4-е – 73,8±0,12; 5-е – 59,6±0,1. Тогда как при добавлении раствора щавелевой кислоты данный показатель составлял соответственно 98,3±0,05; 84,5±0,16; 58,6±0,09; 47,3±0,22.

Таблица 3

Результаты осеменения овцематок спермой, разбавленной глюкозо-цитратно-желточной средой, сохраняемой при температуре +2...+5°C

№ п/п	Группа животных	Количество животных	Среда	Срок хранения спермы, сут.	Оплодотворяемость овцематок, %	Получено ягнят
1	Опытная	7	Глюкозо-цитратно-желточная + лимонная кислота с «Иммуномаксом»	5	80	12
2	Контрольная	7	Глюкозо-цитратно-желточная + лимонная кислота	5	70	8

Из результатов исследований, представленных в табл. 3, можно видеть, что оплодотворяемость овцематок опытной группы составила 80%, получено при окоте 12 ягнят, или 1,5 ягненка на одну овцематку. В контрольной группе оплодотворяемость овцематок составила 70%, было получено при окоте 8 ягнят, или 1,1 ягненка на одну овцематку.

Нами установлено:

- В глюкозо-цитратно-желточной среде спермии баранов при температуре +2...+5°C сохраняют свою жизнеспособность в течение 5 суток, а в глюкозо-фосфатно-желточной среде при аналогичной температуре – 3-е суток; выживаемость спермиев в глюкозо-цитратно-желточной среде с pH 6,7-6,9 при добавлении изотонического раствора щавелевой кислоты составляет 3-4 сут., лимонной – 3-4 сут., винной – 2-3 сут., яблочной – 2-3 сут., янтарной – 3-4 сут. Наиболее высокая выживаемость спермиев была установлена при указанной температуре и кислотности среды в глюкозо-цитратно-желточной среде с добавлением изотонического раствора лимонной кислоты и 100 ЕД «Иммуномакса».

- Интенсивность дыхания спермиев была наиболее высокой в глюкозо-цитратно-желточной среде и добавлением изотонического раствора лимонной кислоты и «Иммуномакса», она составляла 3-7 мин.; содержание живых спермиев на 5-е сутки в вышеуказанной среде с добавлением лимонной кислоты и «Иммуномакса» составляло 87,21±0,06%, резистентность – 32,4±0,22 тыс., тогда как данные показатели в указанной среде без включения в нее «Иммуномакса» составляли соответственно 59,6%, 30,5 тыс.

- Для сохранения высокой оплодотворяющей способности спермиев при температуре +2...+5°C в течение 5 суток хранения рекомендована синтетическая среда, состоящая из: воды дистиллированной – 100 мл, натрия лимоннокислого – 2,8 г, желтка куриных яиц – 20 мл, глюкозы медицинской – 0,8 г, лимонной кислоты – 0,05 г, «Иммуномакса» – 100 ЕД. На 3 сутки хранения спермы в среду добавлять 1 г натрия лимонно-кислого для нейтрализации образовавшейся молочной кислоты.

- Установлено, что разбавление спермы баранов глюкозо-цитратно-желточной средой с добавлением изотонического раствора лимонной кислоты и 100 ЕД «Иммуномакса» при сохранении ее при +2...+5°C в течение 5 суток способствовали оплодотворению 80% овцематок и получению 12 ягнят, тогда как в контрольной группе оплодотворяемость овцематок составила 70%, было получено 8 ягнят.

Заключение

Для осеменения овцематок необходимо использовать сперму баранов, сохраняемую до 5 суток при температуре +2...+5°C в бытовом холодильнике, разбавленную глюкозо-цитратно-желточной средой с добавлением 100 ЕД «Иммуномакса» и изотонического раствора лимонной кислоты.

Список литературы

1. Порфирьев И.А., Петров А.М. Акушерство и биотехника репродукции животных: Уч. пос. СПб: Изд-во «Лань», 2009. 352 с.: ил. (Учебники для вузов. Спец. лит.).
2. Белобороденко А.М., Белобороденко М.А., Белобороденко Т.А. Руководство по акушерству, гинекологии и биотехнике размножения животных. Тюмень: ТГСХА, 2007. 580 с.
3. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных: Уч.-методич. пос. для студентов IV курса по спец. 110502–Ветеринария / Сост.: А.М. Семиволос, В.С. Авдеенко, А.М. Петров. Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2009. 92 с.
4. Петров А.М., Удалов Г.М. Физиология беременности. Взаимосвязь иммунной, эндокринной и нервной систем регуляции в период плодношения: Уч. пос. М: ФГОУ ВПО МГАВМиБ, 2009. 65 с.
5. Ескин Г.В. Основные направления развития Головного центра по воспроизводству сельскохозяйственных животных на 2009–2012 гг. и на период до 2015 года / Сервисные центры по воспроизводству сельскохозяйственных животных – основа эффективного развития животных: Мат. семинара «Опыт создания и работы сервисных центров по воспроизводству сельскохозяйственных животных в рамках реализации Государственной программы развития сельского хозяйства», 22-24 сентября 2009 г. Дубровицы, 2009. 314 с.
6. Шайдулин И.Н. Сохранение семени барана и использование его в племенном овцеводстве: Мат. научно-практич. конф. «Актуальные проблемы биологии воспроизводства животных», 25-26 октября 2007 г. Дубровицы, 2007. 68-74 с.

Контактная информация:

Ванюкова Олеся Игоревна: 8 (916) 644 39 05



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

ФАРМАКОПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СУБИНВОЛЮЦИИ МАТКИ У КОРОВ

Субинволюция матки приводит к появлению острых и хронических эндометритов, функциональных расстройств яичников, а также к другим послеродовым патологическим процессам. Данная патология в сочетании с другими послеродовыми заболеваниями может привести к бесплодию коров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: субинволюция матки, клинический и скрытый эндометриты, фармакопрофилактика, атония и гипотония матки.

A.M. HURANOV, B.G. PANKOV

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

PHARMACOPROPHYLAXIS AND TREATMENT OF UTERUS SUBINVOLUTION IN COWS

Subinvolution of the uterus results in acute and chronic endometritis, functional disorders of the ovaries, as well as the other post-partum pathological processes. This pathology combined with other post-natal diseases can lead to sterility of cows.

KEYWORDS: subinvolution of the uterus, clinical and latent endometritis, pharmacoprophylaxis, atony and hypotony of the uterus.

Субинволюция матки – замедление обратного развития матки до состояния, присущего этому органу у небеременных животных. Это осложнение может быть у животных всех видов, но особенно предрасположены к нему коровы. При этом замедляется рассасывание гипертрофированных при беременности мышечных волокон.

Функциональные расстройства матки (субинволюция, атония и др.) вызывают не только бесплодие, но также снижение удоев и упитанности коров, ухудшение санитарных и технологических свойств молока.

По данным А.О. Манасяна, задержание последов у коров в различных регионах России происходит в 14,6% случаев.

Если учитывать не отделившиеся последы у коров по истечении 6-8 ч., то частота задержания последов поднимается до 71-85% и соответствует частоте атонии и субинволюции матки у коров, при которых имеются все условия для возникновения эндометритов. Эти заболевания чаще регистрируются в зимнее время – стойловый период у животных с пониженным щелочным резервом на фоне гиповитаминоза А. Субинволюция матки также может осложняться субклинической (скрытой) формой эндометрита.

Субинволюция матки встречается у 30% отелившихся коров, при этом в пастбищный период – у 25%, а в стойловый при отсутствии прогулок – у 46% (О.П. Ивашкевич, Р.Н. Азизян, 1987).

Дни после отела	Диагноз	Способ	
		Профилактика	Лечение
1-2	Задержание последа	Профилактика кетозов: внутримышечно 2-3 мл 0,1%-ного р-ра карбахолина через 3 ч. после выделения плода.	В 1-е сутки гинекологические свечи, п/к синестрол и окситоцин. Через 48 ч. после отела внутриматочно ввести 20 г порошка ФЛЭКС-2 в 80 мл разбавителя.
2-4	Задержание последа до 48 ч.	Введение в матку препарата ФЛЭКС-2 (100 мл).	Через 2-3 дня после введения в матку препарата ФЛЭКС-2 вытянуть послед натяжением руки.
3	Атония матки	Профилактика кетозов: внутримышечно 2-3 мл 0,1%-ного р-ра карбахолина через 3 ч. после выделения плода.	п/к синестрол и окситоцин, в/в раствор глюкозы и хлорида кальция.
3-6	Вялые роды, задержание последа, родовые травмы, атония матки	Профилактика субклинических кетозов. Однократное внутриматочное введение 20 г порошка ФЛЭКС-2 в 80 мл 7%-го раствора ихтиола.	Лечение послеродовых заболеваний как указано выше (в данной табл.).
3-12	Субинволюция матки	Профилактика субклинических кетозов. Однократное внутриматочное введение 20 г порошка ФЛЭКС-2 в 80 мл 7%-го раствора ихтиола.	в/м введение 2-3 мл 0,1%-ного раствора карбахолина на 3, 6 и 9-й дни, а если проведена фармакопрофилактика на 3-й день, то инъекции проводят на 6, 9 и 12-й дни после отела.
15	Скрытые эндометриты	Диагностируется акушерской ложкой Панкова Б.Г. (АЛП).	Однократное внутриматочное введение 10 г препарата ФЛЭКС-2 в 50 мл разбавителя.



С целью снижения частоты послеродовых осложнений Б.Г. Панков разработал схему ранней диспансеризации, фармакопрофилактики и лечения послеродовых осложнений у коров, которая предусматривает фармакопрофилактический контроль за животными с первого дня после отела до плодотворного осеменения.

Опыт по применению схемы ранней диспансеризации, фармакопрофилактики и лечения послеродовых

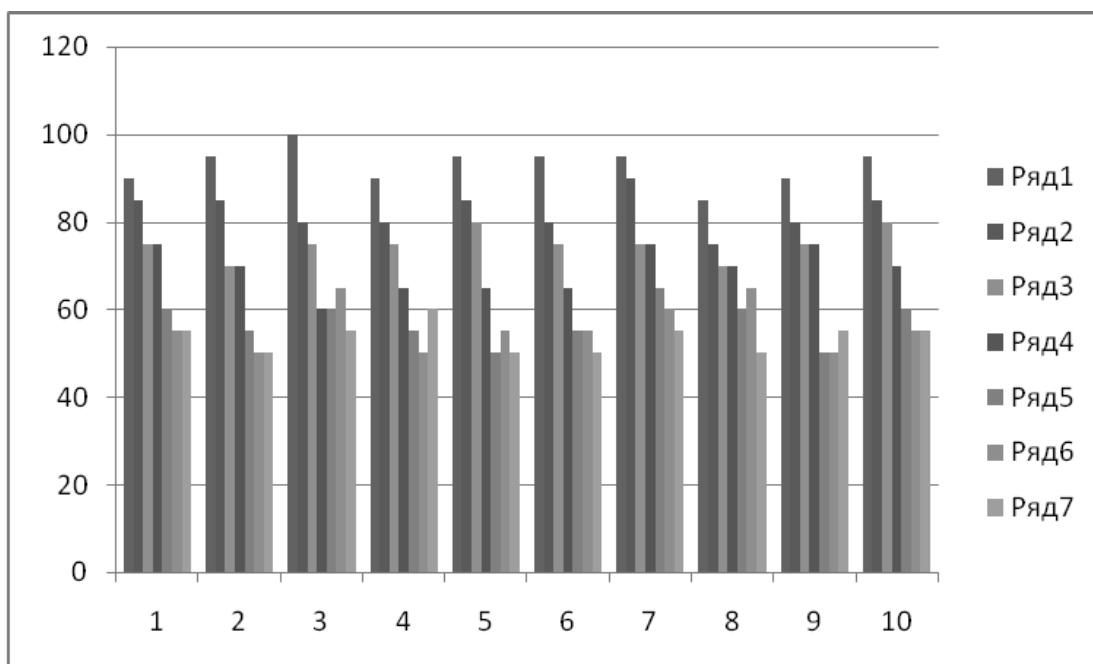
осложнений у коров проведен нами на базе уч. хоз-ва МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, МТФ «Бессоново», на коровах черно-пестрой породы, со средним удоем 3200 кг молока за лактацию. Были сформированы две группы (опытная и контрольная), по 10 коров в каждой. Группы создавались по принципу аналогов.

Таким образом, в опытной группе для фармакопрофилактики задержания последа, а также при гипото-

Для наглядности приводятся два графика, на которых показан процесс инволюции матки до 24 дня:

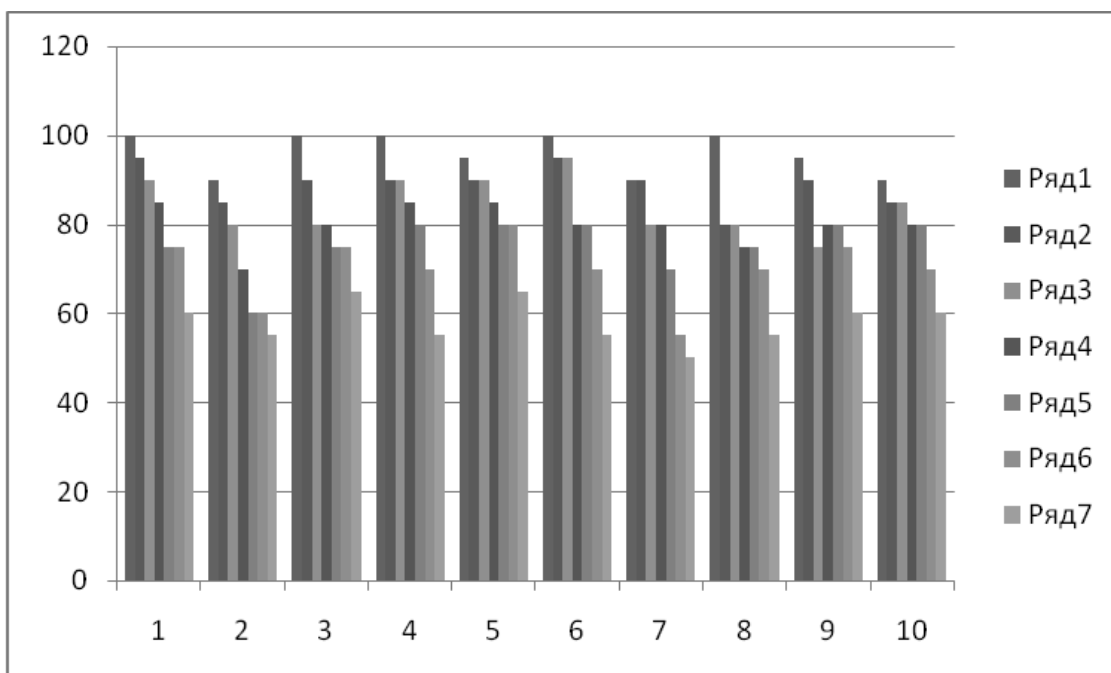
Опытная группа

График 1



Контрольная группа

График 2



Примечание. Здесь слева – процент выхода стержня АЛП из влагалища коровы, снизу – порядковые номера коров в группе, а количество рядов соответствует дням, в которые проводился контроль инволюции матки. Ряды 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 соответствуют дням после отела: 6, 9, 12, 15, 19-21, 24, м/у 2-3 ох.



Акушерство

нии и атонии матки проводилась инъекция препарата «Гетеротон» через 4 часа после отела с целью повышения тонуса матки.

Для фармакопрофилактики клинических и скрытых эндометритов проводилась санация полости матки от условно-патогенной микрофлоры (УПМ), с этой целью применяли внутриматочное введение суспензии ФЛЭКС-2. Бактерицидную активность оптимальной дозы суспензии ФЛЭКС-2 определяли методом серийных разведений в пробирках с МПБ с последующим внесением грамположительных и грамотрицательных музейных культур микроорганизмов. Активным действующим веществом ФЛЭКС-2 был йодоформ.

Для ранней диагностики состояния половых органов у коров применяли акушерскую ложку Панкова Б.Г. (АЛП) (патент №2000132939, от 28 декабря 2000г.). Образец выделений из матки, взятый под шейкой, матки помещался из ложки в центральный неокрашенный кружок тест-карты АЛП и сравнивался с «эталонными» цветными кружочками, подписанными для каждой формы эндометрита. При скрытых эндометритах в ложке содержится мутная жидкая или густая клейкая слизь и незначительная примесь гноя. Для диагностики эндометритов АЛП применялась 5 раз после отела: (на 6, 9, 12, 15, 19-21 дни). Фармакопрофилактика клинического эндометрита проводилась 1-кратным внутриматочным введением 100 мл суспензии ФЛЭКС-2 через 48 часов после отела. Суспензию вводили шприцем Жанэ, соединенным с гибким катетером (от устройства ПОС-5, применяемого для искусственного осеменения свиней) резиновой трубкой.

Для профилактики и лечения субинволюции матки проводилась инъекция препарата «Гетеротон» на 6, 9, 12 дни после отела. На 15-й день после родов для фармакопрофилактики и лечения скрытых эндометритов внутриматочно вводили однократно суспензию ФЛЭКС-2 в количестве 50 мл (шприцем Жанэ, соединенным с полистироловой пипеткой для искусственного осеменения коров резиновой трубкой).

В опытной группе у 3 коров был применен метод неоперативного отделения задержавшегося до 48 часов последа: внутриматочно вводили 100 мл суспензии ФЛЭКС-2. Эта суспензия обладает широким и пролонгированным (в течение 6-7 суток) спектром антимикробного действия. Белок УПМ денатурируется йодом и атомарным кислородом, выделяющимися после смешивания суспензии йодоформа с перекисью водорода в шприце Жанэ. Матка saniруется от УПМ, а карункулы, подвергаясь протеолитическому автолизу, выделяются в виде бесструктурной массы с лохиями. Через два дня после введения суспензии ФЛЭКС-2 в полость матки послед отходит самостоятельно или легким натяжением руки, без возникновения клинического эндометрита. В контрольной группе у пяти коров с задержанием последа его отделяли вручную, после чего у коровы развивался клинический эндометрит.

Для диагностики инволюции и субинволюции матки применялась АЛП с длиной стержня 27 см.

За показатель состояния инволюции или субинволюции матки был принят процент, на который стержень АЛП выходит из влагалища. У клинически здоровых коров при полном завершении инволюции матки этот показатель составляет 50-55%. В опытной группе к 24-му

дню после отела у 80% коров инволюция матки была завершена. У 20% коров на 15-й день после отела был поставлен диагноз на скрытый эндометрит, после чего проводились лечебные мероприятия по схеме. К 24-му дню после отела процесс инволюции находился в завершающей стадии.

В контрольной группе к 24-му дню после отела субинволюция матки диагностировалась у 90% коров. У 70% коров на 15-й день после отела был поставлен диагноз на скрытый эндометрит, что в дальнейшем значительно осложняло процесс инволюции матки и удлиняло сервис-период.

Из графиков видно, что в среднем в опытной группе процент выхода стержня АЛП из влагалища составлял на 6 день $93 \pm 4,22\%$; на 9-й – $82,5 \pm 4,25\%$; на 12-й – $75 \pm 3,33\%$; на 15-й – $69 \pm 5,16\%$; на 19-21-й – $57 \pm 4,83\%$; на 24-й – $56 \pm 5,68\%$; м/у 2-3 ох. – $53,5 \pm 3,38\%$, а в контрольной группе в те же дни составлял: $96 \pm 4,6\%$; $89 \pm 4,6\%$; $84,5 \pm 6,43\%$; $80 \pm 4,71\%$; $75,5 \pm 6,43\%$; $70 \pm 7,45\%$; $58 \pm 4,83\%$.

Субинволюция матки является одной из причин удлинения сервис-периода. Снижаются показатели воспроизводительной способности коров за счет эмбриональной смертности, частота которой колеблется в пределах 50-70%. Экспресс-диагностика, а также своевременное проведение лечебно-профилактических мероприятий позволяют снизить процент возникновения послеродовых заболеваний, сокращают сервис-период и увеличивают выход телят на 100 коров.

Список литературы

1. Панков Б.Г. Профилактика патологических родов и послеродовых заболеваний у коров на промышленных комплексах: Межвуз. сб. науч. тр. «Профилактика и лечение акушерско-гинекологической патологии с.-х. животных». М.: МВА, 1990. С. 70-74.
2. Панков Б.Г., Жаров А.В. Профилактика, фармакопрофилактика, ранняя диагностика, лечение клинических и скрытых форм эндометритов у коров: Учебн. пос. М., 2008. С. 104.
3. Гончаров В.П. Лечение и профилактика акушерско-гинекологических заболеваний у коров и телок. М., 1990. 30 с.
4. Порфирьев И.А., Петров А.М. Акушерство и биотехника репродукции животных: Учебн. пос. СПб: Лань, 2009. 352 с.
5. Черемисинов Г.А., Мисайлов В.Д., Нежданов А.Г. и др. Лечение и профилактика гинекологических заболеваний у коров. М., 1988. 7 с.
6. Середин В.А. Биотехнология воспроизводства в скотоводстве: Учебн. пос. Нальчик, 2004. 471 с.
7. Шипилов В.С. Значение активного моциона в профилактике бесплодия коров в зимний период // Ветеринария, 1966. №1. С. 73-76.
8. Гончаров В.П., Скорогудаев В.А. Профилактика послеродового эндометрита и субинволюции матки у коров на молочных фермах промышленного типа: Межвуз. сб. науч. тр. «Профилактика и лечение акушерско-гинекологической патологии с.-х. животных. М.: МВА, 1990. С. 64-68.
9. Родин И.И. Профилактика бесплодия коров при искусственном осеменении // Ветеринария, 1970. №7. С. 97-99.
10. Прокофьев М.И., Черных В.Я., Долженков В.М., Кадацкий Г.М. Биотехнология регуляции воспроизводительной функции у крупного рогатого скота: Тр. ВНИИ физиологии, биохимии и питания с.-х. животных. Т. 27, 1983. С. 3-11.

Контактная информация:
Хуранов А.М. 8(926)3420028



БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РИСКИ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ И ОРГАНИЗМОВ

В статье отражена проблема резкого роста количества продовольствия с генетически модифицированными организмами (ГМО). Подчеркнута необходимость разработки надежных методов контроля содержания ГМО в продуктах питания и в составе кормов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ДНК, генетически модифицированные (трансгенные) растения, ГМО, пищевые продукты, ПЦР-идентификация.

A.V. BAKULINA, S.V. DARMOVA, V.M. BAKULIN

Vyatka State University, Kirov

BIOTECHNOLOGICAL RISKS OF PRODUCTS BASED ON GENETICALLY MODIFIED PLANTS AND ORGANISMS

The investigation reflects concerns with rapid growth of food products with genetically modified organisms. The abstract stresses the importance of working out reliable content control methods of genetically modified organisms in food products and within fodder.

KEYWORDS: DNA, genetically modified (transgenic) plants, GMO, foodstuffs, PCR-identifications.

Еще недавно генная инженерия растений представляла собой чисто экспериментальную область биотехнологии, исследования в которой были направлены на разработку лабораторных методов получения высокоурожайных сортов растений [1]. В наши дни генетически модифицированные растения давно перешагнули из лабораторий в поле и на прилавки, из области научных экспериментов в область промышленно-коммерческого использования, что вызывает озабоченность органов, контролирующих безопасность кормов животных и продуктов питания человека [2]. Исключительно широкое распространение получили трансгенные сельскохозяйственные культуры растений, обладающие различными признаками, отсутствовавшими у данных культур в природе. Помимо высокоурожайных сортов генетически модифицированных растений, устойчивых к неблагоприятным условиям среды, гербицидам, насекомым-вредителям, вирусным и бактериальным инфекциям, сегодня конструируют растения-суперпродукты (или так называемые «растительные биореакторы»), способные к крупномасштабному синтезу различных веществ для нужд медицины, пищевой, химической и других областей промышленности [3, 4].

В России руководство страны стремится исключить бесконтрольное распространение пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных организмов (ГМО). Главным санитарным врачом Российской Федерации было принято Постановление № 80 от 30 ноября 2007 года «О надзоре за оборотом пищевых продуктов, содержащих ГМО». Установить жесткий контроль над потоками продовольствия, содержащего ГМО, обязывает и принятая в начале 2010 года «Доктрина продовольственной безопасности», утвержденная Президентом Российской Федерации Д.А. Медведевым и опубликованная на его сайте www.kremlin.ru 1 февраля 2010 года.

По данным Международной службы по мониторингу за применением агробиотехнологии (ISSAA), в 2009 году трансгенные культуры растений выращивались на рекордных площадях в 134 млн га [5]. С 1996 года, когда трансгенные культуры впервые вышли на мировой рынок, произошло 80-кратное увеличение площадей биотехнологических культур, что делает сельскохозяйственную биотехнологию самой быстроразвивающейся технологией в истории современного сельского хозяйства. Трансгенная соя в 2009 году заняла три четверти из 90 млн га мировых посевов сои; трансгенный хлопчатник – почти половину из 33 млн га выращиваемого хлопчатника; трансгенная кукуруза – более четверти из 158 млн га посевов кукурузы во всем мире; а трансгенный рапс – более пятой части из 31 млн га посевных площадей данной культуры (табл.).

В 2009 г. биотехнологические культуры выращивались в 25 странах мира, и еще в 32 странах они были разрешены для ввоза, применения в качестве продуктов питания и кормов (рис.).

Таблица

Соотношение площадей трансгенных и нетрансгенных линий ведущих биотехнологических культур

Культура	Площади, занимаемые трансгенными культурами, млн га	Площади, занимаемые нетрансгенными культурами, млн га
Соя	67,5	22,5
Хлопчатник	16,5	16,5
Кукуруза	39,5	118,5
Рапс	6,2	24,8

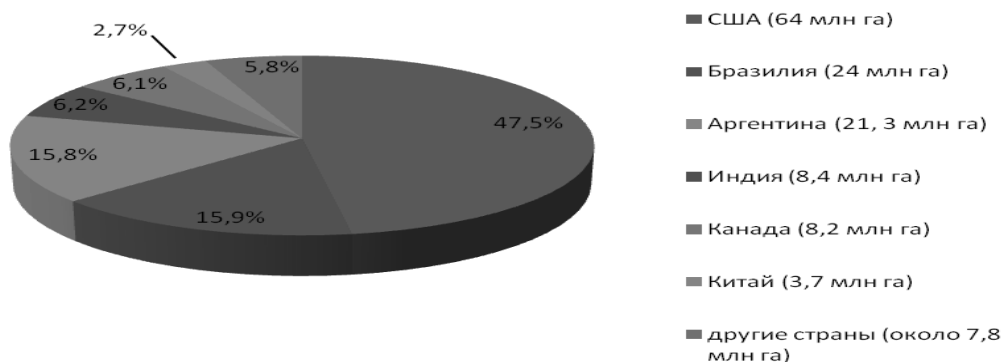


Рис. Площади трансгенных культур в мире в 2009 году: распределение по странам

Анализ экономического эффекта использования трансгенных культур за период с 1996 по 2008 годы показал рост прибыли в размере 51,9 млрд долларов. Прибавка урожая за этот же период составила 167 млн т, а объем вносимых пестицидов снизился на 356 млн кг. По прогнозам ISSAA, к 2015 г. генетически модифицированные культуры будут применять в 40 странах на площади 200 млн га.

Преимущества генетической модификации растений перед классическими методами селекции очевидны. Источником целевого гена может быть любой генотип, начиная от прокариотических микроорганизмов и заканчивая животными и человеком, при этом не существует ограничений по фертильности, затрудняющих скрещивание растений. Трансформация растений ускоряет создание сорта, достижение прогнозируемого эффекта по определенному признаку. Но вместе с тем растение приобретает набор качеств, опосредованных плейотропным действием чужеродного белка и свойствами самой встроенной конструкции, в том числе ее нестабильностью и регуляторным действием на соседние гены и непредсказуемым влиянием последних на ДНК-вставку. Эти непрогнозируемые качества приводят к возникновению потенциальных рисков использования генетически модифицированных растений [6].

Все нежелательные последствия возделывания и потребления трансгенных растений объединяют в три группы: пищевые, агротехнические и экологические риски. Экологические риски включают следующие нежелательные явления:

- снижение сортового разнообразия сельскохозяйственных культур в результате массового использования трансгенных растений, полученных из ограниченного набора родительских сортов;

- риск проявления отдаленного плейотропного эффекта переноса трансгенных конструкций, заключающийся в появлении видов растений с повышенной чувствительностью в отношении относительно слабых фитопатогенов, например, многочисленных видов плесневых микромицетов рода родов *Fusarium*;

- появление «супер-сорняков» вследствие неконтролируемого переноса трансгенных конструкций (особенно обуславливающих устойчивость к гербицидам, вредителям и возбудителям болезней растений) в результате переопыления с родственными дикорастущими видами;

- риск быстрого появления устойчивости к используемым трансгенным токсинам у насекомых-фитофагов, бактерий, грибов и других вредителей;

- риск неконтролируемого горизонтального переноса трансгенных конструкций в микрофлору ризосферы;

- риск появления «супер-патогенных» штаммов фитовирусов при взаимодействии их с конструкциями модифицированного генома вирусоустойчивого растения, проявляющими нестабильность и тем самым являющимися мишенью для рекомбинации с вирусной ДНК;

- негативное влияние на биоразнообразие нецелевых насекомых, микрофлору почвы и нарушение их трофических связей путем воздействия токсичных трансгенных белков [7].

Однако отмеченные выше явления не указывают на порочность технологии создания ГМО как таковой, а связаны с несовершенством существующих методов генетической инженерии. Генно-инженерные технологии и трансгенные организмы действительно могут быть объектами риска, но он устраним с помощью соблюдения соответствующего законодательства и научного мониторинга за осуществлением трансгеноза, тестированием ГМО в лабораторных и полевых условиях.

В большинстве европейских стран на законодательном уровне введены строгие ограничения выращивания ГМО и их использования в составе продуктов питания. Согласно Инструкции ВОЗ установлена обязательная маркировка пищевых продуктов, содержащих генетически модифицированные компоненты более 0,9% [8, 9]. В Корее же маркировка обязательна для продуктов, содержащих более 3, а в Японии – более 5% генетически модифицированного компонента.

В Российской Федерации официально зарегистрировано и разрешено для реализации населению и употребления в пищу 17 сортов трансгенных растений, среди которых кукуруза, соя, сахарная свекла, рис и картофель. Безусловно, многие трансгенные продукты будут потребляться людьми в их повседневной жизни, что остро ставит вопрос контроля над потоками трансгенных растений.

Современная методика выявления трансгенных компонентов основывается преимущественно на анализе ДНК растений или полученных из них продуктов. Наиболее используемым среди существующих методов обнаружения генетически модифицированного материала растительного происхождения является метод полимеразной цепной реакции. Выявление трансгенных растений основывается преимущественно на обнаружении структурных элементов генетических конструкций, интегрированных в геном растения. Причем, так как большинство полученных трансгенных культур (по край-



ней мере 95% всех генетически модифицированных растений, зарегистрированных для пищевого применения на территории РФ, несут эту конструкцию) содержит в составе введенной генетической конструкции промотор 35S вируса мозаики цветной капусты (CaMV) [10, 11]. Следует помнить, что существует не менее 8 различающихся вариантов промотора 35S, используемых при создании трансгенных растений. Кроме того, в состав промотора 35S входит последовательность, играющая роль «горячей точки рекомбинации», что может серьезно дестабилизировать геном.

С появлением трансгенных растений, относящихся к семейству Brassicaceae (масличный рапс, белокочанная капуста), выявился существенный недостаток промотора 35S как молекулярного маркера, а именно, достаточно высокий уровень зараженности посевов вирусом мозаики цветной капусты (ВМЦК). Этот вирус поражает не только растения указанного семейства – *Brassicae* и *Arabidopsis thaliana*. Некоторые штаммы вируса могут также вызывать болезни растений семейств *Solanaceae* и *Fabaceae*. Именно зараженность этим вирусом проверяемого материала является причиной ложного выявления генетически модифицированных компонентов в анализируемых образцах пищевой продукции. Использование другого универсального молекулярного маркера, например, терминатора гена нопалинсинтетазы из петунии (*NOS*), лимитировано тем, что праймерные системы, сконструированные на основе его нуклеотидной последовательности, часто амплифицируют неспецифические продукты при исследовании многокомпонентных пищевых образцов, затрудняя проведение точного анализа [11]. Наличие указанных регуляторных элементов не всегда свидетельствует о присутствии генно-инженерной конструкции. Эти последовательности имеются в природе и их обнаружение возможно при попадании в образец природного носителя (бактерии или вируса). Достоверность исследования существенно повышается при обнаружении «стыков» последовательностей регуляторных элементов и целевых генов, которые свидетельствуют о наличии существующей в природе конструкции. Но данный подход не дает однозначного ответа на вопрос об интеграции трансгенной конструкции в геном растения, ведь вектор может находиться в свободном состоянии. Наиболее достоверно присутствие трансгенного материала определяется по наличию в пробе участков стыка генома растения и регуляторных элементов чужеродной ДНК. Участок интеграции индивидуален для каждой линии трансгенного растения, что позволит дополнительно идентифицировать данную линию трансгенного растения. Но при этом возникает необходимость разработки и применения значительного количества различных тест-систем.

Следует отметить, что количественное определение ГМО методом ПЦР основано на расчете отношения количества ДНК трансгенного растения к общему количеству ДНК организма данного вида. Поэтому данный подход не дает возможности оценить количество генно-модифицированных источников в продукте (для этого нужно знать его точную рецептуру).

Таким образом, выпустив в свет генетически модифицированные организмы, научное сообщество фактически не предоставило надежного инструмента для контроля за содержанием ГМО в продуктах питания и кормах.

Выращивание и потребление трансгенных растений требует тщательной медико-биологической оценки безопасности генетически модифицированных культур, которая включает проведение домаркетинговой экспертизы безвредности и потенциальных рисков использования трансгенного растения, регистрацию трансгенных культур и пострегистрационный мониторинг за обращением трансгенных растений.

С учетом этого все более актуальным становится вопрос разработки эффективных методов идентификации трансгенной ДНК и количественного анализа чужеродной ДНК в растительном материале. Подтверждением этому служат результаты глобального опроса, проведенного ведущими журналами по сельскому хозяйству: «UK Farmers Weekly», «Dutch Boerderij» и др., которые были опубликованы в изданиях Англии, ЮАР, Новой Зеландии, Австралии, Дании, США и Канады [12]. Опрос показал, что наиболее популярная среди фермеров новая технология в производстве продовольственного и фуражного сырья – использование ГМО. Комментируя данные опроса, Морген Нильсен, директор по сельскохозяйственной биотехнологии EuroBio (Европейской ассоциации биологической промышленности), отметил: «На протяжении всей истории фермеры использовали новые технологии ... и пока политики играют в свои игры, фермерам уже сейчас нужны практические решения практических проблем ... по поводу получения доступа к трансгенным культурам».

Список литературы

1. Гетман И.А. Мониторинг трансгенных компонентов в продуктах питания растительного происхождения, проведенный на основе исследования ДНК // Экос-информ, 2007. № 10. С. 47-48.
2. Лысыков Ю.А. Безопасность пищи и питания // Жизнь без опасности, 2009. № 3. С. 30-40.
3. Глик Б.Р., Пастернак Д.Д. Генная инженерия растений: применение // Молекулярная биотехнология М.: Мир, 2002. С. 389-418.
4. Куликов А.М. Генетически модифицированные организмы и риски их использования // Физиология растений, 2005. Т. 52. №1. С. 115-124.
5. Джеймс К. Статус коммерческих биотехнологических ГМ-культур в мире: 2009 год // <http://www.isaaa.org>.
6. Шевелуха В.С. Биотехнологии и биобезопасность в агропромышленном производстве // Достижения науки и техники АПК, 2004. №1. С. 6-9.
7. Куликов А.М., Митрофанов В.Н. Трансгенные организмы: как уменьшить риски? // Наука в России, 2008. № 2. С. 54-60.
8. Germini A., Zanetti A., Salali C., Rossi S. Development of a seven-target multiplex PCR for the simultaneous detection of transgenic soybean and maize in feeds and foods // J. Agric. Food. Chem., 2004. V. 52. № 11. P. 3275-3280.
9. Onishi M., Matsuoka T., Kodama T., Kashiwaba K. Development of a multiplex polymerase chain reaction method for simultaneous detection of eight events of genetically modified maize // J. Agric. Food. Chem., 2005. V. 53. № 25. P. 9713-9721.
10. Ребриков Д.В. ПЦР «в реальном времени» // Лаборатория знаний. М.: БИНОМ, 2009. 223 с.
11. Булыгин, Е.С., Сухачева М.В., Бумажкин Б.К., Кузнецов Б.Б. Применение триплексной ПЦР для идентификации генетически модифицированного источника в пищевых продуктах // Биотехнология, 2010. № 2. С. 81-86.
12. Новости биотехнологии // Биотехнология, 2010. № 2. С. 3-7.

Контактная информация:
e-mail: BMK953@mail.ru



ИЗМЕНЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *FUSARIUM* ПОД ВЛИЯНИЕМ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ

Представлены экспериментальные данные, свидетельствующие о перспективности использования перфторуглеродов (ПФУ) в биотехнологических процессах глубинного культивирования микромицетов рода *Fusarium*, показано, что добавление в жидкие среды ПФУ приводит к существенному ускорению роста микромицетов, повышению выхода биомассы фузариий, гиббереллиновой кислоты и микотоксина, возрастанию целлюлозолитической активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: микромицеты, фузариин, перфторуглероды, глубинное культивирование, биомасса, гиббереллиновая кислота, микотоксин, целлюлаза.

M.K. BAKULIN, S.V. DARMOVA, YU.S. OVSYANNIKOV, V.M. BAKULIN, E.M. GORDEEVA

Vyatka State University, Kirov

THE CHANGE OF PRODUCTIVITY MICROMYCETES *FUSARIUM* KIND UNDER INFLUENCE OF PERFLUOROCARBONE

The experiment data of the perspectives of using perfluorocarbone (PFC) in biotechnological processes of deep cultivating micromycetes *Fusarium* kind has shown that the addition of (PFC) to the liquid medium provides a considerable increase of micromycetes growth rate and productive efficiency biosynthesis of an ultimate product: biomass, gibberellic acid and mycotoxin, increase of cellulolytic activity.

KEYWORDS: micromycetes, fusarium, perfluorocarbone, deep cultivation, biomass, gibberellic acid, mycotoxin, cellulose.

Среди микроскопических грибов, синтезирующих вторичные метаболиты с исключительно высокой активностью, одно из ведущих мест по количественному видовому составу, разнообразию свойств, распространенности и перечню синтезируемых веществ занимают микромицеты рода *Fusarium*. Фузариин обнаруживают повсеместно на всех континентах, во всех странах мира в основных растительных сельскохозяйственных продуктах – пшенице, кукурузе, рисе, ячмене, овсе, сорго. Космополитизм этих микромицетов настолько велик, что их выделяли в пробах с Международной космической станции.

Фузариин давно привлекали внимание биотехнологов разных стран. В Англии сотрудниками фирмы Ranks Novis McDougall налажено производство микопротеина на основе глубинной культуры штамма *Fusarium graminearum*, выделенного из почвы. Если не считать пищевых продуктов, получаемых на протяжении многих столетий с использованием дрожжей, то микопротеин из фузариий является первым и пока единственным официально разрешенным видом белковой пищи микробного происхождения, получаемой биотехнологами. Технология получения микопротеина, основанная на непрерывном глубинном культивировании *F. graminearum* с использованием в качестве субстратов глюкозы, аммиака и аммонийных солей, во много раз эффективнее технологий получения говядины, свинины и мяса кур. Следует отметить, что волокнистая текстура мицелия фузариий позволяет придавать микопротеину структуру, цвет и вкус любого мясного продукта.

Другим важным направлением биотехнологического использования фузариий является получение из глубинной культуры *Fusarium moniliforme* гиббереллинов

соединений с исключительно высокой физиологической активностью в отношении растений, которые повсеместно используются в качестве стимуляторов их роста. В настоящее время описано более пятидесяти гиббереллинов, которые по химической структуре являются тетрациклическими карбоновыми кислотами, относящимися к дитерпенам. Получение гиббереллинов с помощью *F. moniliforme* представляет собой типичный двухфазный процесс микробиологического синтеза, при котором вначале происходит интенсивное накопление биомассы, а затем образование продукта.

Однако главным, что относит фузариин к наиболее известным для микологов микромицетам, является то, что они вызывают повсеместное поражение растений и растительных продуктов, а через них и сельскохозяйственных животных, при этом образуют в среде своего развития более 150 трихотеценовых и около 40 других микотоксинов. Для сравнения можно отметить, что представители двух других, не менее известных, групп микромицетов аспергиллы синтезируют около 30 микотоксинов, пенициллы – около 40 токсичных метаболитов. Из фузариозных микотоксинов наибольшую опасность для людей и животных представляют дезоксиниваленол (вомитоксин, ДОН), Т-2 токсин, зеараленон (Ф-2) и ряд других трихотеценовых фузариотоксинов, относимых в ветеринарии к первому классу опасности, ядовитым и высокотоксичным веществам [1, 2]. По химической структуре трихотеценовые микотоксины относят к сесквитерпенам, ядро которых, названное трихотеканом, состоит из трех колец, что делает их в какой-то степени близкими к гиббереллинам (тетрациклические дитерпены).



Кроме вышеперечисленных уникальных синтезируемых продуктов фузарии являются продуцентами ряда ферментов (целлюлаз, ксиланаз, пектиназ, протеиназ и др.) и являются неприхотливыми биодеструкторами, поэтому они привлекают все большее внимание биотехнологов [3, 4].

В агроценозах всех зерносеющих стран мира, в том числе и России, распространены разные виды фузарий: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichiella*, *F. moniliforme*, *F. nivale*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*,

F. oxysporum, *F. gibbosum*, *F. heterosporum*, *F. sambucinum*, *F. semitectum* и др., из них первые 5 – наиболее широко [5].

Для препаративного получения продуктов микробиологического синтеза повсеместно используют глубинное культивирование. В биотехнологии глубинного культивирования фузарий одним из проблемных вопросов является обеспечение постоянного равномерного снабжения микробных клеток растворенными питательными веществами, газами и удаление продуктов метаболизма.

Таблица 1

Динамика биомассы фузарий в исследуемых глубинных культурах при росте на средах с перфторуглеродами

Штамм фузарий	Питательная среда	Вносимый в среду ПФУ	Содержание ПФУ в среде, об. %	Содержание биомассы (г·дм ⁻³) в культуральных средах на ... ч. роста ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=7)			
				48	96	144	192
<i>F. graminearum</i> СД 13-308	Соевая	Контроль	0	3,9±0,4	15,3±2,8	20,5±2,8	20,7±2,3
			ПФД	0,2	4,1±0,3	20,2±2,7	28,2±2,7
		1,0		4,9±0,5	26,5±2,9	28,5±2,9	23,1±2,2
		5,0		5,7±0,5	45,7±4,3	34,7±2,9	8,4±1,2
		25,0		7,5±0,7	39,6±3,6	31,2±3,6	16,4±1,6
		ПФДЦ	0,2	4,2±0,4	20,6±3,0	29,6±3,0	14,9±1,4
			1,0	4,8±0,6	27,1±3,1	30,1±3,1	14,2±1,5
			5,0	5,5±0,5	43,3±3,4	28,3±3,0	14,5±1,4
			25,0	7,3±0,6	38,2±3,8	31,0±3,4	19,7±1,7
		Миро	Контроль	0	<2,0	11,3±1,0	19,8±1,9
	ПФД			0,2	<2,0	12,2±1,4	22,2±3,1
			1,0	<2,0	17,0±2,2	24,1±2,2	15,8±1,6
			5,0	<2,0	29,8±3,1	28,1±3,4	18,5±1,8
			25,0	<2,0	30,2±2,8	29,7±3,1	12,4±1,4
<i>F. graminearum</i> СД 11-909	Контроль	0	4,7±0,7	19,6±2,5	24,6±2,8	22,9±1,3	
		ПФД	0,2	5,1±0,5	21,4±2,4	27,2±3,4	19,7±1,2
	1,0		5,9±0,7	24,7±3,0	30,7±3,5	16,7±1,6	
	5,0		6,4±0,7	41,2±3,1	31,2±3,8	15,0±1,3	
	25,0		8,1±0,9	37,5±2,9	20,5±2,1	11,7±1,2	
<i>F. moniliforme</i> ГБ 14-210	Контроль	0	3,5±0,4	15,9±1,9	21,4±2,9	21,7±2,2	
		ПФД	0,2	4,0±0,3	18,5±1,6	31,2±3,6	11,5±1,4
	1,0		4,5±0,5	20,6±2,0	29,6±3,0	18,8±1,3	
	5,0		5,4±0,6	43,1±2,5	35,1±3,1	17,9±1,7	
	25,0		7,1±0,7	43,3±2,7	28,3±3,0	8,4±1,0	
<i>F. oxysporum</i> С-099-К	Контроль	0	<2,0	14,1±1,2	18,5±1,9	19,4±1,6	
		ПФД	0,2	<2,0	15,2±1,4	21,3±2,0	20,1±1,4
	1,0		<2,0	17,8±2,0	31,2±3,1	17,2±1,5	
	5,0		<2,0	33,7±2,3	31,0±3,2	14,5±1,4	
	25,0		<2,0	33,0±2,1	20,1±2,4	11,7±1,1	
<i>F. sporotrichiella</i> КК-794-24	Контроль	0	4,1±0,4	18,8±1,8	20,9±2,2	21,5±1,9	
		ПФДЦ	0,2	4,3±0,5	20,9±2,3	26,4±2,5	24,1±2,4
	1,0		5,0±0,7	23,5±2,1	31,2±3,4	14,0±1,4	
	5,0		6,2±0,6	49,1±4,4	31,7±3,0	18,5±1,8	
	25,0		7,7±0,7	45,4±4,6	28,1±2,8	11,4±1,4	



Большие возможности представляют в этом плане жидкие перфторуглероды (ПФУ), обладающие комплексом практически полезных свойств, в том числе: большой способностью растворять газы (до 50 об.% O_2 и до 200 об.% CO_2); модифицировать мембраны клеток, облегчая транспорт веществ через них; легкостью отделения от культуральной жидкости и возможностью многократного использования при глубинном культивировании микроорганизмов [6, 7]. В этом плане актуальной является оценка возможности использования ПФУ для интенсификации процессов биосинтеза микромицетами рода *Fusarium*.

Целью настоящей работы являлась экспериментальная оценка перспективности использования ПФУ для интенсификации процессов роста культур микромицетов рода *Fusarium* и биосинтеза ими физиологически активных веществ.

Материалы и методы

В работе использованы перфторуглероды производства ОАО «Кирово-Чепецкий химический комбинат им. Б.П. Константинова»: перфтордекалин (ПФД, химическая формула – $C_{11}F_{20}$) ТУ 95-2241-91 и перфтор-1,3-диметилциклогексана (ПФДЦ, химическая формула – C_8F_{16}) ТУ 95-1693-88 [6, 7].

Штаммы микроорганизмов. В работе использованы штаммы микромицетов рода *Fusarium* с типичными родовыми и видовыми свойствами, выделенные из почвы и зерна злаковых: *F. graminearum* СД 13-308 и СД 11-909, *F. moniliforme* ГБ 14-210 и ГБ 21-809 (из коллекции ВятГУ), *F. sporotrichiella* КК-794-24 и *F. oxysporum* С-099-К, полученные из ФГУ ЗНИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого.

Питательные среды. Для выращивания микромицетов использовали плотную среду Чапека и жидкие среды Сабуро и Миро, приготовленные по рекомендованным прописям и технологиям, а также жидкую питательную среду с соевой мукой («соевая» среда), содержащую: крахмал – 3,0%; соевую муку – 4,0%; $(NH_4)_2C_4H_4O_6$ – 0,6%; $(NH_4)_2SO_4$ – 0,4%; $CaCO_3$ – 0,8%; K_2HPO_4 – 0,01%; глюкозу – 3,0%; воду водопроводную – до 100% [8, 9].

Микробиологические методы.

Посевной материал для получения глубинных культур выращивали в течение 10 суток на скошенном агаре Чапека в пробирках при температуре 22-24°C. Выращенную культуру смывали физиологическим раствором, подсчитывали количество конидий в камере Горяева, разводили до концентрации $5 \cdot 10^7$ конидий в $см^3$. Культуры фузарий выращивали в колбах Эрленмейера объемом 500 $см^3$ при температуре 22-24°C на шуттеле со скоростью вращения 230 об./мин. в течение 8 суток. Для этого в стерильные колбы вносили: ПФУ по 0,3; 1,5; 7,5; 37,5 мл (0,2; 1,0; 5,0; 25,0 об.%); по 3 $см^3$ стандартизованных культур фузарий, содержащих $5 \cdot 10^7$ конидий в $см^3$, по десять стерильных стеклянных бусинок диаметром 0,4 см, а затем готовой средой доводили общие объемы культур до 150 мл (100%). Пробы по 20 $см^3$ отбирали через каждые 48 часов. Выросшую биомассу отделяли от культуральной жидкости фильтрованием, фильтры высушивали при температуре 105°C. Сухой остаток определяли взвешиванием [10]. Количественный анализ содержания гиббереллиновой кислоты и дезоксиниваленола проводили методами тонкослойной хроматографии

с использованием в качестве контролей коммерческих стандартизованных препаратов фирм «Sigma» и «MP Biomedicals». О целлюлозолитической активности культур судили по скорости образования редуцирующих сахаров под действием ферментов культуральной среды модифицированным методом Шомоди–Нельсона (в процентах от взятого субстрата – карбоксиметилцеллюлозы) [9, 11, 12].

Результаты и обсуждение

Результаты экспериментальных исследований показали, что динамика прироста биомассы культур разных штаммов фузарий при глубинном выращивании на средах Сабуро, Миро и в среде на основе соевой муки имеет общие закономерности и характерна для прироста биомассы стандартной микробной культуры при периодическом культивировании. При этом максимумы получаемой биомассы приходились на 144-196 ч роста для всех штаммов (табл. 1).

Внесение в среду ПФД или ПФДЦ интенсифицировало процесс роста исследуемых культур (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют, что оба перфторуглерода практически в равной степени стимулируют процессы биосинтеза у фузарий, а оптимальная концентрация (из четырех использованных) ПФУ в среде культивирования составляет 5 об.%.

При росте культуры *F. graminearum* СД 13-308 на жидкой среде с добавлением 5,0 об.% ПФД уже через 96 ч. роста содержание биомассы мицелия по абсолютной величине в 3,0 раза превышало содержание биомассы в контрольной культуре, достигнутое на это время роста, и в 2,2 раза превышало максимальное содержание биомассы, достигнутое на 192 ч. роста культуры этого же штамма в контрольном эксперименте без использования перфторуглеродов (табл. 1). Эта закономерность по приросту биомассы с небольшими вариациями была характерна для всех использованных штаммов фузарий. Внесение 5,0 об.% ПФД и ПФДЦ приводило к выраженному (в среднем двукратному) приросту абсолютного количества биомассы и ускорению получения в глубинных культурах ее максимальных концентраций на 48-96 ч.

Интенсификация биохимических процессов в глубинных культурах фузарий под влиянием ПФУ проявлялась и в более быстрой деструкции мицелия (после достижения максимумов содержания биомассы в среде), что особенно хорошо заметно в культуральных средах, содержащих 5,0 и 25,0 об.% перфторуглеродов. Внесение 25 об.% ПФУ в среду вызывало более быстрый аутолиз мицелиальной культуры, что при отсутствии преимуществ в получении целевых продуктов с культурами, содержащими 5 об.% ПФУ, свидетельствовало о видимой нецелесообразности использования столь высоких концентраций.

Наименьший общий выход биомассы мицелия отмечен у всех штаммов грибов при выращивании на среде Миро. На средах с большим выходом биомассы (Сабуро и соевой) происходило окрашивание культуральной жидкости в различные оттенки темно-оранжево-желтого цвета. В то время как на среде Миро сохранялся бледно-желто-оранжевый цвет.

В исследуемых пробах были оценены показатели интенсивности биосинтеза фузариями физиологически активных веществ: гиббереллиновой кислоты, дезоксиниваленола и комплекса целлюлаз (табл. 2-4).



Таблица 2

Содержание гиббереллиновой кислоты (ГБК) в исследуемых глубинных культурах при росте на соевой среде с перфтордекалином

Штамм <i>F. moniliforme</i>	Концентрация перфтордекалина в среде, об. %	Содержание ГБК (мкг·см ⁻³) в культуральных средах на ... ч. роста ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=7)			
		48	96	144	192
ГБ 14-210	0	0	19,3±2,1	28,1±3,0	32,8±3,1
	0,2	7,7±1,5	23,1±2,2	34,6±2,4	32,7±2,3
	1,0	8,4±1,7	35,7±2,9	39,5±2,7	22,5±2,5
	5,0	12,6±1,4	49,5±4,7	89,8±4,5	25,9±2,1
	25,0	14,5±1,6	54,7±5,1	34,5±3,7	10,8±1,7
ГБ 21-809	0	0	10,8±1,4	19,7±2,0	29,2±2,8
	0,2	0	12,4±1,2	32,9±2,7	27,1±2,1
	1,0	7,0±1,2	28,2±2,5	33,7±2,9	28,4±2,3
	5,0	10,1±1,1	41,3±4,3	72,7±3,8	34,8±1,9
	25,0	12,8±1,8	47,0±5,1	27,1±2,5	9,9±1,1

Таблица 3

Содержание дезоксиниваленола в исследуемых культурах при росте с ПФУ

Штамм фузарий	Питательная среда	ПФУ в среде	Концентрация ПФУ в среде, об. %	Содержание дезоксиниваленола (мкг·см ⁻³) в культуральных средах на ... ч. роста ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=5)			
				48	96	144	192
<i>F. oxysporum</i> C-099-K	Сабуро	ПФД	0	0	7,4±1,7	16,1±2,2	19,7±2,1
			0,2	0	13,3±1,2	19,6±2,4	20,3±2,5
			1,0	6,7±1,5	17,8±1,5	23,5±2,7	21,7±2,7
			5,0	9,4±1,7	24,1±2,0	35,2±2,6	22,3±2,0
			25,0	11,5±1,6	23,7±2,1	24,5±1,7	15,9±2,1
			<i>F. sporotrichiella</i> КК-794-24	Соевая	ПФДЦ	0	0
0,2	0	10,8±1,7				29,7±3,0	24,2±1,9
1,0	7,9±1,6	12,4±1,7				34,9±2,7	27,1±2,0
5,0	8,6±1,4	36,2±2,5				45,2±3,1	22,5±2,3
25,0	12,1±1,9	33,3±2,2				18,7±1,8	14,8±1,9

Полученные результаты показали, что наличие в среде ПФУ существенно стимулирует биосинтез культурами фузарий физиологически активных веществ, что особенно выражено на примере изменения динамики биосинтеза штаммами *F. moniliforme* ГБ 14-210 и ГБ 21-809 гиббереллиновой кислоты, штаммами *F. oxysporum* C-099-K и *F. sporotrichiella* КК-794-24 дезоксиниваленола. При этом в соевой среде с 5 об. % ПФД на 144 ч. роста концентрации образуемых фузариями гиббереллиновой кислоты в 2,4-2,7 раза, дезоксиниваленола в 1,8-2,1 раза превышали максимумы их концентраций в контрольных культурах (без ПФД), достигаемых на 192 ч. роста (табл. 2, 3).

Таблица 4

Целлюлозолитическая активность глубинных культур фузарий при росте на соевой среде с перфтордекалином

Штамм фузарий	Концентрация перфтордекалина в среде, об. %	Степень осахаривания карбоксиметилцеллюлозы (процент от исходного количества) под влиянием культуры фузарий, взятой на ... ч. роста ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=5)			
		48	96	144	192
<i>F. oxysporum</i> C-099-K	0	8±2	21±3	38±4	31±4
	0,2	9±2	27±3	41±4	29±3
	1,0	14±2	42±4	42±4	27±3
	5,0	17±2	73±5	34±3	19±2
	25,0	27±3	68±4	43±4	17±2
<i>F. graminearum</i> СД 13-308	0	0	9±2	15±2	22±3
	0,2	4±2	16±3	29±3	25±3
	1,0	7±2	23±3	25±3	23±3
	5,0	12±3	42±4	27±3	20±3
	25,0	17±3	35±4	32±4	18±2
<i>F. sporotrichiella</i> КК-794-24	0	7±2	20±2	32±3	30±3
	0,2	8±2	29±3	39±4	27±3
	1,0	14±3	32±4	34±3	25±3
	5,0	20±3	78±5	54±5	20±3
	25,0	29±4	60±5	33±4	12±2

Оценка глубины осахаривания карбоксиметилцеллюлозы (процент от исходного количества) под влиянием комплексов целлюлаз глубинных культур фузарий, взятых на разное время роста, позволила оценить динамику целлюлозолитической активности фузарий при росте на соевой среде. Уже через 48 ч. роста целлюлозолитическая активность культур в средах с 5-25% ПФД существенно (в 2,1-4,1 раза) превышала аналогичные показатели в контролях. Глубина осахаривания карбоксиметилцеллюлозы под влиянием целлюлаз, содержащихся в культурах фузарий с 5 об. % ПФД на 96 ч. роста, достигала 44-78%, в контроле – 9-21%.



Выводы

1. Внесение перфтордекалина и перфтор-1,3-диметилциклогексана в жидкие среды, использованные для глубинного выращивания штаммов фузарий видов *moniliforme*, *sporotrichiella*, *graminearum*, *oxysporum*, привело к ускорению роста микромицетов, увеличению достигаемых концентраций биомассы всех исследуемых культур, интенсификации биосинтеза фузариями физиологически активных веществ.

2. Наличие перфторуглеродов в культуральной среде приводило после ускоренного достижения повышенных концентраций соответствующих продуктов фузариозного биосинтеза к более выраженным последующим биохимическим процессам аутолиза мицелиальной массы и деградации синтезируемых продуктов.

Список литературы

1. Жуленко В.Н., Рабинович М.И., Таланов Г.А. Ветеринарная токсикология. М.: Колос, 2004. 384 с.
2. Кузнецов А.Ф. Ветеринарная микология. СПб: Лань, 2001. 416 с.
3. Яровенко В.Л., Калуняц К.А., Голгер Л.И. Производство ферментных препаратов из грибов и бактерий. М.: Пищ. пром-сть, 1970. 314 с.

4. Билай В.И. Биологически активные вещества микроскопических грибов и их применение. Киев: Наук. думка, 1965. 267 с.
5. Монастырский О.А. Токсикообразующие грибы, паразитирующие на зерне // Агро XXI. 2001. № 11. С. 6-8.
6. Иваницкий Г.Р. Наноконтейнеры на основе перфторуглеродов с функцией переноса оксида азота // Биофизика, 2008. № 2. С. 367-377.
7. Бакулин М.К., Кучеренко А.С., Бакулина Л.В., Шведов В.В. Влияние перфторорганических соединений на рост стрептомицетов и биосинтез ими антибиотика даунорубицина // Антибиотики и химиотерапия, 2003. Т. 48. № 12. С. 5-8.
8. Равилов А.З., Гильмутдинов Р.Я., Хусаинов М.Ш. Микробиологические среды. Казань, 1999. 398 с.
9. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
10. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и др. Методы экспериментальной микологии / Под ред. В.И. Билай. Киев: Наук. думка, 1982. 552 с.
11. Фениксова Р.В., Тиунова Н.А., Родионова Н.А. Определение активности целлюлазы. Методы современной биохимии. М.: Наука, 1975. С. 23-28.
12. Somodgy M. Effect of insulin hypoglycemia on alimentary hyperglycemia // J. Biol. Chem., 1952. V. 193. № 19. P. 195-197.

Контактная информация:
Бакулин В.В. vladbakulin@rambler.ru

УДК [604.4:615.33] +547.539.19/199

М.К. БАКУЛИН, С.В. ДАРМОВА, В.М. БАКУЛИН, Ю.С. ОВСЯННИКОВ, В.В. ШВЕДОВ

Вятский государственный университет, Киров

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ БИОСИНТЕЗА ДАУНОРУБИЦИНА И РОСТА STREPTOMYCES PURPUROGENISCLEROTICUS ПОД ВЛИЯНИЕМ ПЕРФТОР-1,3-ДИМЕТИЛЦИКЛОГЕКСАНА

Показана перспективность использования перфтор-1,3-диметилциклогексана (ПФЦГ) в биотехнологии для интенсификации роста *Streptomyces purpurogeniscleroticus* при глубинном культивировании. Продемонстрировано увеличение выхода биомассы стрептомицетов и биосинтеза ими антибиотика даунорубицина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перфтор-1,3-диметилциклогексан (ПФЦГ), стрептомицеты, биосинтез даунорубицина, глубинное культивирование.

M.K. BAKULIN, S.V. DARMOVA, V.M. BAKULIN, Yu.S. OVSYANNIKOV, V.V. SHVEDOV

Vyatka State University, Kirov

INTENSIFICATION DAUNORUBICIN BIOSYNTHESIS AND GROWTH OF STREPTOMYCES PURPUROGENISCLEROTICUS UNDER THE INFLUENCE OF PERFLUORO-1,3-DIMETHYLCYCLOGECSAN

The use of perfluoro-1,3-dimethylcyclogecsane (PFCG) in biotechnology for intensification of the *Streptomyces purpurogeniscleroticus* growth under submerged conditions was shown. An increase of the biomass output and higher yields biosynthesis of daunorubicin were also demonstrated.

KEYWORDS: perfluoro-1,3-dimethylcyclogecsane (PFCG), streptomycetes, daunorubicin biosynthesis, deep cultivation.

Значительное число природных антибиотиков, нашедших широкое применение в практике и, следовательно, выпускаемых промышленностью, относится к биологически активным соединениям, продуцируемым стрептомицетами [1]. Используемые для этих целей в качестве продуцентов грамположительные бактерии рода *Streptomyces* обладают интенсивным аэробным метаболизмом и им, как и всем микроорганизмам с интенсивными процессами обмена, жизненно необходим кислород

[2, 3]. Для препаративного получения антибиотиков повсеместно используют глубинное культивирование [4]. В биотехнологии глубинного культивирования одним из проблемных вопросов является обеспечение постоянного равномерного снабжения микробных клеток растворенными питательными веществами, газами и удаление продуктов метаболизма [5]. Для нормального роста стрептомицетов в глубоких слоях жидкой питательной среды требуется аэрация и улучшение условий переноса



в клетки микроорганизмов кислорода. Большие возможности представляют в этом плане жидкие перфторорганические соединения (ПФОС), обладающие комплексом практически полезных свойств, в том числе: большой способностью растворять газы (до 50 об.% O_2 и до 200 об.% CO_2) и модифицировать мембраны клеток, облегчая транспорт веществ через них [6, 7]. Ранее нами была показана перспективность использования для интенсификации роста *S. purpurogeniscleroticus* «Перфторана» – дорогостоящего кровезаменителя с газотранспортной функцией, называемого «голубой кровью», и перфтордекалина, входящего в состав этого кровезаменителя [8, 9]. Представлялось интересным оценить возможность использования для тех же целей более дешевого перфторуглеродного соединения, производимого в России. Таким соединением является перфтор-1,3-диметилциклогексан, который, обладая практически всеми свойствами перфторуглеродов, используемых в составе кровезаменителя, более чем в шесть раз дешевле «Перфторана» [6, 10].

Целью настоящей работы являлась экспериментальная оценка перспективности использования перфтор-1,3-диметилциклогексана для ускорения процессов роста культур стрептомицетов и увеличения продукции ими противоопухолевого антибиотика даунорубицина (рубомидина).

Материалы и методы

В работе использован перфтор-1,3-диметилциклогексан – перфторуглерод производства ОАО «Кирово-Чепецкий химический комбинат им. Б.П. Константинова» (ТУ 95-1693-88) – бесцветная прозрачная негорючая жидкость, по своим свойствам близкая к перфтордекалину.

Штаммы микроорганизмов. В работе использованы штаммы микроорганизмов с типичными родовыми и видовыми свойствами: два штамма актиномицетов *Streptomyces purpurogeniscleroticus* ВБМ 158 и ВБМ 81 – продуцентов даунорубицина (рубомидина) и четыре тест-штамма бактерий *Escherichia coli* M17, *Bacillus subtilis* 91, *Staphylococcus aureus* 208, *Pseudomonas putida* ВУ38, использованных для определения и сравнения антибиотической активности культуральных сред выращивания продуцентов антибиотиков и активности выделяемых антибиотиков [8].

Питательные среды. Для выращивания микроорганизмов использовали мясо-пептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), агар Чапека, приготовленные по рекомендованным прописям и технологиям [8, 11, 12].

Для глубинного выращивания стрептомицетов использовали жидкую питательную среду с соевой мукой, содержащую крахмал – 3,0%; соевую муку – 3,0%; $(NH_4)_2C_4H_4O_6$ – 0,5%; $(NH_4)_2SO_4$ – 0,4%; $CaCO_3$, – 0,8%; K_2HPO_4 – 0,01%; глюкозу – 1,5% (вводится в стерильную питательную среду); воду водопроводную – до 100% [8].

Микробиологические методы.

Для изучения и контроля свойств микроорганизмов использовали микробиологический анализатор фирмы «bio-Merieux» (Франция) и классические микробиологические методы в соответствии с общепринятыми требованиями [8, 9, 12]. Выращивание культур тест-штаммов проводили на МПА при 28–30°C в течение двух суток.

Культуры стрептомицетов выращивали в колбах Эрленмейера емкостью 500 мл при температуре 27–29°C на шуттеле со скоростью вращения 230 об./мин. В стерильные колбы вносили ПФЦГ с пятикратным шагом: 0,3; 1,5; 7,5 мл (0,2; 1,0; 5,0 об.%); по 6 мл стандартизованной посевной культуры, содержащей по 12,5 мг биомассы в мл, по десять стерильных стеклянных бусинок диаметром 0,4 см, а затем готовой средой доводили общий объем рабочей смеси до 150 мл (100%) и конечной концентрации продуцентов в рабочей суспензии 0,50 мг/мл.

Для выращивания стрептомицетов использовали жидкую питательную среду с соевой мукой. Через каждые 48 ч. культивирования отбирали пробы по 15 мл, в которых оценивали чистоту культуры и её морфологическую типичность путем микроскопии мазков; накопление биомассы и концентрацию антибиотиков с применением методов диффузии в агар при использовании культур бактериальных тест-штаммов *B. subtilis* 91, *S. aureus* 208, *E. coli* M17, *P. putida* ВУ38 и газо-жидкостной хроматографии с использованием в качестве контролей растворов коммерческих препаратов даунорубицина.

При оценке нативных культур *S. purpurogeniscleroticus* ВБМ 158 и ВБМ 81 предварительно проводили гидролиз культуральной среды следующим методом. После отбора пробы культуральной среды в нее вводили 10%-ный раствор трилона-Б в количестве 0,05% по сухому весу и выдерживали в течение 30 мин. После этого pH культуральной жидкости доводили до $3,0 \pm 0,2$ введением раствора щавелевой кислоты. Затем культуральную жидкость нагревали до температуры 87–89°C, выдерживали при данной температуре 45 минут и максимально быстро охлаждали до температуры 4–10°C. На следующем этапе с целью высаливания белка в пробу вводили NaCl в количестве 5 мг/мл, pH культуральной жидкости доводили 10%-ным раствором гидроксида натрия до 5,5.

Результаты и обсуждение

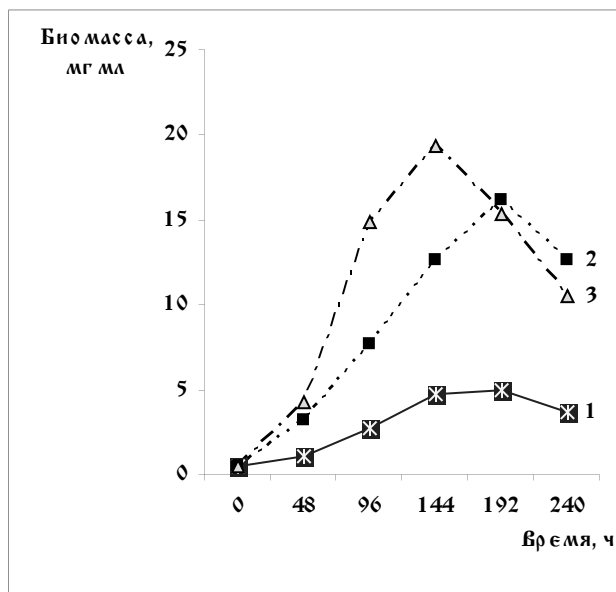
Результаты экспериментальных исследований показали, что оба использованных штамма *S. purpurogeniscleroticus* обладают сходными культурально-морфологическими характеристиками и обеспечивают типичную для этого вида динамику роста (рис. 1). При концентрации ПФЦГ в среде 0,2 об.% выход биомассы и рубомидина для обоих штаммов практически не отличался от контролей (культур без ПФОС), поэтому эти показатели не отражены на диаграммах (рис. 1, 2).

Наиболее интересные результаты были получены в экспериментах по выращиванию стрептомицетов с концентрациями 1,0; 5,0 об.% ПФЦГ.

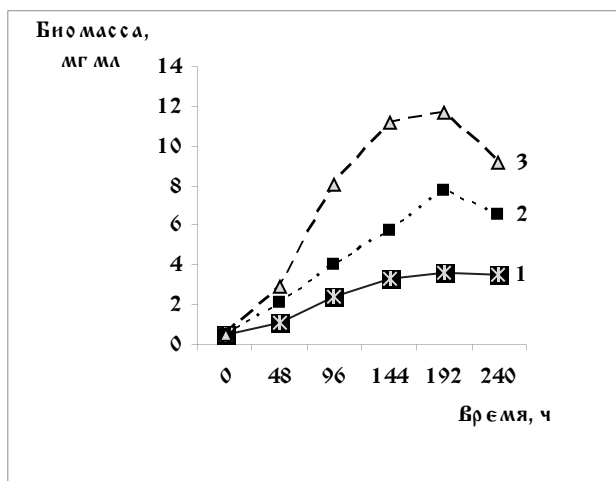
Уже через 96 ч. роста концентрация биомассы в культуральной среде содержащей 1 и 5 об.% перфтор-1,3-диметилциклогексана, в 1,1–1,6 и 2,3–3,0 раза соответственно превышала максимальные концентрации биомассы стрептомицетов, достигаемые в контроле только через 192 ч. роста (см. рис. 1 А, Б). Максимально достигаемые концентрации биомассы стрептомицетов на среде с 5 об.% ПФЦГ превышали максимальные показатели выхода биомассы в контроле для штамма *S. purpurogeniscleroticus* ВБМ 158 в 3,9 раза, для штамма ВБМ 81 – в 3,1 раза. Следует отметить, что добавление 5 об.% ПФОС обеспечивало более быстрый прирост биомассы с достижением максимума содержания биомассы в культуральной среде для штамма ВБМ 158 до 19,3 мг



на мл уже на 144 ч. роста. Ускоренный прирост биомассы культур стрептомицетов в присутствии 1-5 об.% ПФЦГ отмечался для обоих штаммов.



А



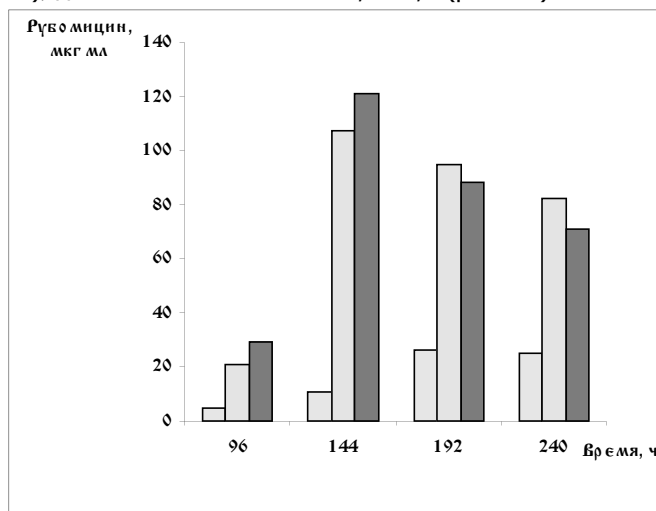
Б

Рис. 1. Накопление биомассы стрептомицетов в культуральной среде без добавок ПФОС (1 – контроль) и в среде, содержащей ПФЦГ (2 – 1 об.% и 3 – 5 об.%), при глубинном культивировании штаммов *S. Purpurogeniscleroticus*: А – ВМ 158 и Б – ВМ 81

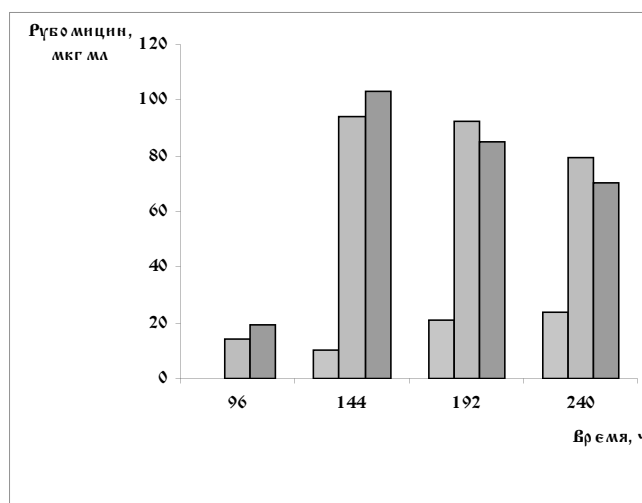
Как видно на рис. 1 (А, Б), кривые накопления биомассы для обоих штаммов при наличии в среде ПФЦГ характеризуются более крутым подъемом в сравнении с кривыми роста контрольных культур, что свидетельствует об интенсификации процесса развития культур обоих штаммов стрептомицетов под влиянием ПФЦГ.

Особого внимания заслуживают результаты исследования влияния перфторуглеродных соединений на продукцию даунорубицина. Если в стандартных условиях глубинного выращивания штамма *S. purpurogeniscleroticus* ВМ 81 продукция даунорубицина выявлялась в пробах культуральной среды только после 144 ч. культивирования на уровне 10 мкг/мл и *S. purpurogeniscleroticus* ВМ 158 на уровне 5 мкг/мл после 96 ч. роста, то в культураль-

ной среде с 1-5 об.% перфтор-1,3-диметилциклогексана концентрация антибиотика в среде к 144 ч. достигала максимальных величин и превышала показатели на этот час в контроле для штамма ВМ 158 в 9,7-11,0 раза (рис. 2А), для штамма ВМ 81 – в 9,4-10,3 (рис. 2Б).



А



Б

Рис. 2. Накопление рубомицина в культуральной среде без добавок ПФОС (1 – контроль) и в среде, содержащей ПФЦГ (2 – 1 об.% и 3 – 5 об.%), при глубинном культивировании штаммов *S. purpurogeniscleroticus*: А – ВМ 158 и Б – ВМ 81

Максимальную скорость антибиотикообразования и максимальный выход даунорубицина в соответствии с условиями экспериментов обеспечивало добавление в среду 5 об.% перфтордекалина: абсолютные максимумы концентрации даунорубицина в среде, достигнутые при культивировании культур обоих штаммов на 144 ч. роста, в 4,3-4,7 раза превышали абсолютные максимумы концентрации антибиотика в контроле, достигнутые только на 192-240 ч. роста.

Следует отметить, что наличие в среде ПФОС приводило не только к интенсификации биосинтеза антибиотика и достижению его более значительных концентраций в культуральных средах, но и к более быстрой его инактивации при продолжении культивирования, при этом отмечалась закономерность: чем интенсивнее



наблюдался рост биомассы и накопление рубомицина в среде, тем с более высокой скоростью его инактивация в культуральной среде отмечалась в последующем.

Проверка активности даунорубицина, полученного при использовании перфторуглеродов методом дисков на плотной питательной среде по подавляющей активности в отношении культур тест-штаммов бактерий в сравнении со стандартным коммерческим препаратом даунорубицина, показала полное соответствие данных по концентрации даунорубицина в культуральной среде, полученных с помощью газо-жидкостной хроматографии и по их антибактериальной активности *in vitro*.

Выводы

1. При стандартных условиях глубинного выращивания культур стрептомицетов максимальный выход даунорубицина отмечался в пробах после 192-240 ч роста и составлял для культуры штамма *S. purpurogeniscleroticus* ВБМ 81 – 24 мкг/мл для культуры штамма *S. purpurogeniscleroticus* ВБМ 158 – 26 мкг/мл.

2. Внесение в среду культивирования перфтор-1,3-диметилциклогексана в концентрации 1–5 об.% привело к ускорению роста, увеличению биомассы использованных культур обоих штаммов. Достигаемые максимальные концентрации биомассы стрептомицетов на среде с 5 об.% ПФЦГ превышали максимальные показатели получения биомассы в контроле в 3,1–3,9 раза, и даунорубицина – в 4,3-4,7 раза, что свидетельствует о положительном влиянии ПФЦГ на рост и продуктивность исследуемых штаммов стрептомицетов.

Список литературы

1. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: МГУ, 2004. 528 с.
2. Шлегель Г.Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 568 с.
3. Глик Б., Пастернак Д. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002. 589 с.
4. Егоров Н.С. Промышленная микробиология. М.: Высш. шк., 1989. 688 с.
5. Тихонов И.В., Рубан Е.А., Грязнева Т.Н. и др. Биотехнология / Под ред. Е.С. Воронина. СПб: ГИОРД, 2005. 702 с.
6. Иваницкий Г.Р. Наноконтейнеры на основе перфторуглеродов с функцией переноса оксида азота // Биофизика, 2008. № 2. С. 367-377.
7. Иваницкий Г.Р. Биофизика на пороге нового тысячелетия: перфторуглеродные среды и газотранспортные кровезаменители // Биофизика, 2001. № 1. С. 5-33.
8. Бакулин М.К., Кучеренко А.С., Бакулина Л.В., Шведов В.В. Влияние перфторорганических соединений на рост стрептомицетов и биосинтез ими антибиотика даунорубицина // Антибиотики и химиотерапия, 2003. Т. 48. № 12. С. 5-8.
9. Бакулин М.К., Плетнева А.Ю., Грудцина А.С. Влияние перфторорганических соединений на рост стрептомицетов и биосинтез ими рубомицина // Актуальные проблемы биологии медицины и экологии, 2004. Т. 3, № 2. С. 310-311.
10. Максимов Б.Н., Барабанов В.Г., Серушкин И.Л. и др. Промышленные фторорганические продукты. СПб: Химия, 1996. 544 с.
11. Равилов А.З., Гильмутдинов Р.Я., Хусаинов М.Ш. Микробиологические среды. Казань, 1999. 398 с.
12. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.

Контактная информация:

Бакулин В.В. vladbakulin@rambler.ru

УДК 577.3:579.8+631.4:632.4

М.К. БАКУЛИН, С.В. ДАРМОВА, Е.М. ГОРДЕЕВА, В.М. БАКУЛИН

Вятский Государственный университет, Киров

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОЛЛЕКТОРЫ ФИТОНЦИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ

В работе рассматриваются теория и практика использования перфторуглеродов (ПФУ) в качестве молекулярных коллекторов летучей и нелетучей фракций фитонцидных комплексов разных растений, позволяющих проводить сбор и стабилизацию всего пула биологически активных веществ для полноценной оценки их антибиотической активности в отношении тест-культур микроорганизмов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фитонциды, растения, перфторуглероды (ПФУ), микроорганизмы, антибиотическая активность.

M.K. BAKULIN, S.V. DARMOVA, E.M. GORDEEVA, V.M. BAKULIN

Vyatka State University, Kirov

MOLECULAR COLLECTORS OF PHYTONCIDES COMPLEXES ON THE BASE OF PERFLUOROCARBONS

The investigation deals with theory and practical usage of perfluorocarbons as molecular collectors for volatile and nonvolatile fraction of different plants' phytoncides complexes, which allow to collect and stabilize every biologically active substance for the full evaluation of their antibiotic activity with respect to microorganisms' test cultures.

KEYWORDS: phytoncides, plants, perfluorocarbons, microorganisms, antibiotic activity.

На длинном историческом пути развития медицины и ветеринарии растительное сырьё всегда занимало ведущие места среди средств лечения больных и защиты ран различной этиологии от нагноения [1]. Важным этапом на этом пути явилось создание отечественным ученым Борисом Петровичем Токиным учения об антимикробных

биологически активных веществах растений – фитонцидах (от греч. *phyton* – растение и лат. *caedere* – убивать) [2]. Сам термин «фитонциды» был предложен Б.П. Токиным в 1928 году для обозначения синтезируемых растениями антимикробных веществ, обладающих разнообразным химическим составом, агрегатным состоянием



ем, спектром и механизмами действия [2]. Позже было установлено, что фитонциды кроме способности убивать или подавлять рост и развитие микроорганизмов могут обладать инсектицидными и антигельминтными свойствами, оказывать общестимулирующее, противовоспалительное, регенерационное, противоаллергическое, интерферогенное и другие воздействия на организм человека и животных [3].

В химическом плане фитонциды представляют собой сложный комплекс химических соединений [3-5]. Обычно различают две фракции: летучую и нелетучую. Летучие фракции фитонцидов представляют собой комплекс легкоиспаряющихся и газообразных соединений. Среди них встречаются антоцианы, низкомолекулярные предельные (метан, этан, пропан, бутан) и непредельные (этилен, пропилен, изобутилен, бутилен) углеводороды, летучие алифатические альдегиды, низкомолекулярные жирные кислоты и их эфиры, серосодержащие алифатические соединения, полиацетатные вещества, низкомолекулярные спирты (метанол, этанол и др.), терпеноиды, смолы, эфирные масла и другие соединения. В хвойных растениях одним из компонентов фитонцидного комплекса является монометиловый эфир пиносильвина. Нелетучие фракции фитонцидов – биологически активные вещества различной природы, находящиеся во внутритканевом соке растений.

К настоящему времени из высших растений выделено более 700 антибиотических веществ. Из них наиболее изучены: аллицин, выделяемый из чеснока; госсипол – из семян хлопчатника; хинин – из хинного дерева; берберин – из лютиковых и барбарисовых растений; рицин – из клещевины и омелы белой; фитоалексины, вырабатываемые растениями в ответ на внедрение паразитов (пизатин из гороха, фазеолин из фасоли) [4].

Исходя из возрастания в наши дни интереса к разностороннему действию на микро- и макроорганизмы биологически активных веществ растений, актуальной остаётся задача разработки универсального подхода стабилизации комплекса фитонцидов для определения антимикробной активности и дальнейшего использования на практике в медицине, ветеринарии и косметологии. Эта задача может быть решена за счет разработки условий адекватной пробоподготовки растительного сырья и, в первую очередь, использования веществ-коллекторов (от лат. *collector* – собирающий), способных аккумулировать при измельчении и сохранять в исходном состоянии все компоненты (летучие и нелетучие; твердые, жидкие и газообразные) фитонцидных комплексов. При этом вещества-коллекторы должны способствовать полноценному проявлению биологической активности фитонцидного комплекса и быть достаточно инертными в отношении биологических тест-объектов.

Целью работы являлось теоретическое и экспериментальное обоснование возможности использования полностью безопасных для прокариот и эукариот перфторуглеродов (ПФУ) в качестве веществ-коллекторов, способных аккумулировать и сохранять компоненты фитонцидных комплексов.

Основная задача исследования сводилась к оценке способности эмульгированных до частиц с размерами 30÷150 нм в составе коммерческого перфторана и целевых жидких ПФУ аккумулировать и сохранять фи-

тонцидные комплексы для последующего анализа их антимикробной активности в отношении тест-культур различных микроорганизмов.

Теоретической предпосылкой выбора ПФУ в качестве веществ-коллекторов явилось наличие у них комплекса уникальных свойств, в том числе: атоксигенности и инертности для прокариот и эукариот; исключительной химической, физической и биологической устойчивости; способности стабилизировать биохимические процессы; легко растворять и сорбировать на себе газы и биологически активные вещества, находящиеся в разном агрегатном состоянии, которые при определенных условиях с легкостью передаются другому реципиенту [6-8]. Наличие таких свойств у ПФУ было доказано при многолетнем использовании их в составе кровезаменителей Oxygent, Liqui Vent, Therox, Oxyfluor (США); Fluosol-DA (Япония); Emulsion II (Китай); перфторан (Россия) и объясняется особой стереохимией перфторуглеродных молекул при исключительной прочности ковалентных связей С—F. Длины связей фтора и водорода с углеродом равны 1,39 Å и 1,09 Å, но атом фтора в 19 раз тяжелее атома водорода [9, 10]. Это позволило остановить наш выбор на ПФУ при поиске веществ, способных выступать в роли молекулярных коллекторов (биосорбентов или биостабилизаторов).

Материалы и методы

Растительное сырье: хвоя сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), ели сибирской (*Picea obovata*), лиственницы Сукачёва (*Larix sukaczewii* Djil); листья березы плакучей (*Betula pendula* Roth), рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia*).

Цельные растения подраста отбирали с почвой для сохранения в жизнеспособном состоянии на пути доставки в лабораторию в мае-июне 2010 г. в Белохолуницком и Вятскополянском районах Кировской области.

Тест-культуры бактерий: кишечная палочка (*Escherichia coli* M 17), выделенная из сертифицированного препарата «Колибактерин», сенная палочка (*Bacillus subtilis* 3) – из сертифицированного препарата «Биоспорин», золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus* K78) и синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa* K9) – выделены из почвы сотрудниками ВятГУ; микромицетов: *Fusarium oxysporum* 1524, *Fusarium culmorum* K-8996, любезно предоставлены ГУ ЗНИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого.

В качестве коллекторов фитонцидных комплексов использовали: перфторан (ПФ) – кровезаменитель производства ОАО «Перфторан» РАН серии 711201, представляет собой субмикронную эмульсию частиц перфтордекалина (ПФД) и перфторметилциклогексилпиперидина (ПФМЦП) с размерами 30÷150 нм, ПФ содержит 10 об.% ПФД и ПФМЦП; перфтордекалин (ПФД – C₁₀F₁₈) и карбогал (КГ – C₈F₁₆) производства ОАО «Кирово-Чепецкий химический комбинат им. Б.П. Константинова», ТУ 95-1233-92 с изм. 1 и ТУ 95-1693-88, бесцветные прозрачные негорючие жидкости без запаха, не растворимы в воде и в органических растворителях, исключительно инертны в химических реакциях, химически стойки к сильным щелочам и кислотам, не горючи, взрывобезопасны, термически устойчивы до 400-450°C, относятся к категории нетоксических веществ; в качестве контролей использовали коммерческие препараты стерильных растворов с разным компонентным составом: полиглю-



кин (ПГ), содержащий в 100 мл 10 г декстрана; гемодез (ГД), содержащий в 100 мл 6 г поливинилпирролидона; дистиллированную воду (ДВ); стерилизованное тиндализацией нерафинированное подсолнечное масло (ПМ) ГОСТ-Р-52465-2005.

Измельчение анализируемого сырья проводили с использованием бытовых мельниц. Нами была использована мельница модификации ЭКМУ-30, мощностью 130 Вт, производства Армавирского электротехнического завода. В камеру $V_p = 40 \text{ см}^3$ помещали 10 граммов свежесобранной хвои или листьев. В крышку камеры был вмонтирован измельчитель с ножами и имелось отверстие диаметром 3 мм, которое после загрузки камеры герметично закрывали клеящейся пленкой для предупреждения испарения материала и потери летучих фитонцидных веществ. Измельчение проводили течение 3 мин. в закрытой камере, доводя частоту вращения ротора до 3000 об.мин⁻¹ при максимальной линейной скорости на режущей части концов ножей до 12 м·сек⁻¹. Варьирование скоростью вращения ротора и временем измельчения позволяло получать порошки препаратов с различной степенью размельчения, с разбросом от 10 до 3000 мкм.

Сразу же после измельчения материала до порошкообразного состояния в отверстие в крышке камеры путем прокола герметизирующей пленки шприцевой иглой вводили 20 см³ ПФУ (или растворов сравнения). Заклеивали получившееся после иглы отверстие герметизирующей пленкой. Перемешивали материал в течение 2 мин. при скорости вращения ротора-измельчителя (перемешивающего устройства) до 700 об.мин⁻¹, что обеспечивало образование равномерной устойчивой взвеси измельченного материала в ПФУ, сорбцию и растворение летучих фракций. С целью оценки стабильности сохранения свойств готовые препараты в герметично закрытых флаконах хранили при температуре 4±2°C.

В основу определения антимикробной активности фитонцидного комплекса положен метод определения минимальных ингибирующих (подавляющих) концентраций (МИК, МПК) антибиотиков для тест-культур микроорганизмов на плотных агаровых средах (для бактерий – на мясопептонном агаре, микромицетов – на среде Сабуро) [2]. На поверхность плотной питательной среды наносили 0,1 см³ свежесобранной в течение 24 ч. для бактерий и 48 ч. для микромицетов бульонной культуры тест-микроорганизма, содержащей 1×10^6 КОЕ·см⁻³ клеток соответствующего микроба по оптическому стандарту мутности (ОСО ГИСК им. Л.А. Тарасевича), тщательно растирали ее шпателем Дригальского для получения при подрачивании в течение 1-2-х суток однородного сплошного газона выросшей культуры. Засеянную микробной культурой поверхность плотной питательной среды подсушивали в течение 30 мин., после чего наносили микропипеткой по периметру плотной питательной среды в чашке Петри в шесть секторов по 25 мкл исследуемой пробы (капельно). Капли размещали на 1,5 см от края чашки. Чашки не переворачивая, выдерживали в термостате на 28°C в течение 24 ч. при использовании в качестве тест-микроорганизмов бактерий, при использовании микромицетов – 72 ч. Результаты учитывали путем измерения зон (диаметров) ингибирования роста микробных культур вокруг нанесенных капель.

Результаты исследования

Результаты экспериментов, представленные в табл. 1 и 2, позволяют расположить семь исследованных веществ в порядке снижения способности аккумулировать и проявлять антибиотическое действие после приготовления ex tempore фитонцидных комплексов из хвои сосны и из листьев березы следующим образом: ПФД, КГ, ПФ, ГД, ПГ, ПМ, ДВ. При этом все семь веществ без фитонцидных комплексов не ингибировали рост тест-культур микроорганизмов (см. контроль, табл. 1).

Лучшим коллектором фитонцидных комплексов показал себя перфтордекалин, который обеспечил не только максимальное проявление антимикробной активности получаемых препаратов из разного растительного сырья, но и позволил сохранить активность комплекса после тридцати суток хранения на уровне около 80-90% (в среднем) от активности исходных препаратов в отношении всех тест-культур бактерий и микромицетов. Карбогал ненамного уступал по оцениваемым показателям перфтордекалину, и его следует признать резервным коллектором фитонцидных комплексов.

Перфторан, содержащий 10 об.% субмикронной эмульсии частиц ПФД и ПФМЦП с размерами 30÷150 нм, по способности аккумулировать и сохранять фитонцидный комплекс уступал препаратам цельных перфторуглеродов.

Таблица 1

Фитонцидная активность проб хвои сосны *Pinus sylvestris* L.

Срок хранения при 4±2°C, сут.	КФК	Диаметр зон ингибирования тест-культуры штамма ... вокруг анализируемой пробы, мм ($\bar{X} \pm I_{95}, n=7$)			
		<i>E. coli</i> M 17	<i>B. subtilis</i> 3	<i>S. aureus</i> K78	<i>P. aeruginosa</i> K9
0*	ПФ	14±2	12±2	18±2	14±3
	ПФД	25±2	24±3	25±3	19±3
	КГ	18±3	13±2	24±3	18±2
	ПГ	16±3	11±2	17±2	15±3
	ГД	17±2	12±3	19±2	16±3
	ДВ	11±3	9±2	12±3	12±2
	ПМ	12±3	16±2	18±3	14±2
7	ПФ	11±2	12±2	16±2	12±2
	ПФД	25±2	23±3	23±3	18±3
	КГ	15±3	11±2	22±3	16±3
	ПГ	10±3	10±2	10±2	9±2
	ГД	11±2	12±3	12±2	11±3
	ДВ	-	-	-	-
	ПМ	8±3	8±2	11±3	8±2
30	ПФ	8±2	6±2	15±2	10±2
	ПФД	19±2	19±3	21±3	15±3
	КГ	12±3	10±2	19±3	14±3
	ПГ	-	-	-	-
	ГД	5±2	5±2	7±2	-
	ДВ	-	-	-	-
	ПМ	-	-	-	-
Контроль**	ПФ	-	-	-	-
	ПФД	-	-	-	-
	КГ	-	-	-	-
	ПГ	-	-	-	-
	ГД	-	-	-	-
	ДВ	-	-	-	-
	ПМ	-	-	-	-



Биотехнология

Примечания. 1. Здесь и в табл. 2, 3 приняты сокращения:

КФК – коллектор фитонцидных комплексов, ПФ – перфторан, ПФД – перфтордекалин, КГ – карбогал, ПГ – полиглюкин, ГД – гемодез, ДВ – дистиллированная вода, ПМ – подсолнечное масло; 2. * – анализ проводился сразу после приготовления препаратов (ex tempore); 3. ** – представлены контроли определения инертности стабилизаторов без растительного сырья в отношении микроорганизмов; 4. (-) – отсутствие угнетения роста.

Листья и хвоя использованных растений обладали разными активностью и спектром действия присущих им фитонцидных комплексов, что отмечалось по разнице размеров зон ингибирования роста тест-культур микроорганизмов.

Таблица 2

Фитонцидная активность проб листьев березы *Betula pendula* Roth

Срок хранения при 4±2°C, сут.	КФК	Диаметр зон ингибирования тест-культуры штамма ... вокруг анализируемой пробы, мм ($\bar{X} \pm I_{95}, n=7$)			
		<i>E. coli</i> M17	<i>B. subtilis</i> 3	<i>S. aureus</i> K78	<i>P. aeruginosa</i> K9
0	ПФ	17±2	13±2	11±2	15±2
	ПФД	22±3	20±3	19±3	24±3
	КГ	22±3	16±2	18±2	22±3
	ПГ	17±2	12±2	16±3	17±2
	ГД	21±2	14±3	18±3	19±2
	ДВ	16±3	14±2	13±2	14±3
	ПМ	19±3	15±2	13±3	18±3
30	ПФ	12±2	10±2	9±2	9±2
	ПФД	19±2	19±3	16±2	21±3
	КГ	17±3	14±2	14±3	18±3
	ПГ	-	-	-	-
	ГД	9±2	7±2	-	7±3
	ДВ	-	-	-	-
	ПМ	-	-	-	-

Таблица 3

Фитонцидная активность проб растений для бактерий и микромицетов

Растительное сырье	Срок хранения при 4±2°C, сут.	КФК	Диаметр зон ингибирования тест-культуры штамма ... вокруг анализируемой пробы, мм ($\bar{X} \pm I_{95}, n=5$)		
			<i>S. aureus</i> K78	<i>F. oxysporum</i> 1524	<i>F. culmorum</i> K-8996
Ель <i>Picea obovata</i>	0	ПФД	26±3	28±3	27±4
		КГ	25±2	27±3	27±3
		ПФ	17±2	19±2	20±2
	30	ПФД	23±3	24±3	24±3
		КГ	22±2	21±3	20±3
		ПФ	7±2	11±2	10±2
Лиственница <i>Larix Sukaczewii</i> Djil	0	ПФД	29±3	26±4	25±3
		КГ	28±2	24±3	24±3
		ПФ	16±2	14±2	15±2
	30	ПФД	26±3	23±3	23±3
		КГ	24±4	20±2	20±2
		ПФ	11±2	9±2	9±2

Рябина <i>Sorbus aucuparia</i>	0	ПФД	18±2	17±4	18±3
		КГ	15±2	15±3	18±3
		ПФ	11±2	14±2	14±2
	30	ПФД	17±3	12±3	21±3
		КГ	17±3	12±3	20±2
		ПФ	6±2	7±2	7±2

Наиболее выраженной фитонцидной активностью обладали препараты хвои ели, лиственницы, сосны, несколько меньшей – листьев березы и наиболее слабой – листьев рябины.

Выводы.

Проведенные исследования показали возможность использования перфтордекалина и карбогала в качестве веществ-коллекторов, способных аккумулировать фитонцидные комплексы разных растений и длительное время сохранять их биологическую активность в отношении бактерий и микромицетов, что с учетом других, уже описанных ранее, свойств указанных перфторуглеродов целесообразно использовать в медицине и ветеринарии при разработке лечебных растительных препаратов.

Список литературы

- Шлегель Г.П. История микробиологии / Пер. с нем. М.: Едиториал УРСС, 2006. 304 с.
- Токин Б.П. Целебные яды растений. Повесть о фитонцидах. Л.: Изд-во ЛГУ, 1980. 280 с.
- Георгиевский В.П., Комисаренко Н.Ф. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука, 1990. 116 с.
- Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: МГУ, 2004. 528 с.
- Ягодин В.И., Балабанов В.И. Основы химии и технологии переработки древесной зелени. Л.: ЛГУ, 1981. 224 с.
- Максимов Б.Н., Барабанов В.Г., Серушкин И.П. и др. Промышленные фторорганические продукты. СПб: Химия, 1996. 544 с.
- Бакулин М.К., Кучеренко А.С., Бакулина Л.В., Шведов В.В. Влияние перфторорганических соединений на рост стрептомицетов и биосинтез ими антибиотика даунорубицина // Антибиотики и химиотерапия, 2003. Т. 48. № 12. С. 5-8.
- Бакулин М.К., Плетнева А.Ю., Грудцына А.С. Биологическая фиксация азота и рост бактерий рода *Azotobacter* в жидких средах в присутствии перфторуглеродов // Прикладная биохимия и микробиология, 2007. Т. 43. № 4. С. 443-449.
- Иваницкий Г.Р. Наноконтейнеры на основе перфторуглеродов с функцией переноса оксида азота // Биофизика, 2008. № 2. С. 367-377.
- Иваницкий Г.Р. Биофизика на пороге нового тысячелетия: перфторуглеродные среды и газотранспортные кровезаменители // Биофизика, 2001. № 1. С. 5-33.

Контактная информация:

Бакулин В.В. vladbakulin@rambler.ru

**И.В. ТИХОНОВ, Ю.С. ОВСЯННИКОВ, В.Е. РОМАНОВ**

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

ТЕХНОЛОГИЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ СТАБИЛИЗИРОВАННОЙ РАБОЧЕЙ КУЛЬТУРЫ В КАЧЕСТВЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Использование стабилизированной рабочей культуры в качестве посевного материала стандартизирует процесс глубинного выращивания в аппаратах-культиваторах, сокращает время начала процесса производства и материальные затраты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: культура, аппарат, выращивание, производство, экономия, затраты, микрофлора.

I.V. TIKHONOV, Yu.S. OVSYANNIKOV, V.E. ROMANOV

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

TECHNOLOGY OF PREPARATION OF THE STABILIZED WORKER OF CULTURE AS THE SOWING MATERIAL FOR DEEP CULTIVATION

Use of the stabilised worker of culture as a sowing material standardises process of deep cultivation in devices cultivators, reduces time of the beginning of process of manufacture and material inputs.

KEYWORDS: culture, the device, cultivation, manufacture, economy, expenses, microflora.

В последние годы в Российской Федерации отмечено повышение удельного веса дисбактериозов, причиной которых являются ухудшение экологической обстановки, неконтролируемое использование в ветеринарии и сельском хозяйстве антибиотиков и различных химиопрепаратов, гормонов и т.п., а также стрессовые факторы и условия, снижение качества питьевой воды и кормов.

Рост числа дисбактериозов как у молодняка, так и репродуктивного поголовья сельскохозяйственных животных и птиц предопределён снижением уровня неспецифической резистентности организма животных и птиц из-за выраженных дисбиотических нарушений.

Учитывая отмеченное, профилактика и лечение дисбактериозов сельскохозяйственных животных и птиц в настоящее время и на ближайшую перспективу являются приоритетными задачами ветеринарии. Их решение возможно при условии реализации комплекса соответствующих противоэпизоотических мероприятий, включая разработку, серийное производство и внедрение в практику новых лечебно-профилактических средств, отвечающих современным требованиям. При этом немаловажное значение для обеспечения действенности системы этих мероприятий имеют адекватность и единая методология использования соответствующих лечебно-профилактических препаратов.

В настоящее время в числе высокоэффективных лечебно-профилактических препаратов отечественными и зарубежными специалистами рассматриваются пробиотики (зубиотики). Пробиотики – это препараты из живых безвредных для организма человека и теплокровных животных, антагонистически активных бактерий, подавляющих *in vitro* и *in vivo* рост и размножение патогенных и условно патогенных микроорганизмов, вызывающих острые кишечные заболевания (ОКЗ) и токсикоинфекции. Пробиотики, в отличие от антибиотиков и химиопрепаратов, не оказывают негативного влияния на пред-

ставителей нормомикрофлоры желудочно-кишечного тракта, слизистых сельскохозяйственных животных и птиц, а наоборот, при дисбиотических изменениях способствуют её качественному и количественному восстановлению до нормальных физиологических значений.

Кроме подбора пробиотических штаммов микроорганизмов большое значение имеет разработка высокоэффективных, молозатратных технологий получения лечебно-профилактических препаратов

В связи с вышеизложенным конструирование эффективных препаратов на основе микроорганизмов с пробиотическими свойствами и создание усовершенствованных технологий их приготовления является весьма актуальной задачей.

Создание нового пробиотического препарата потребовало разработку и введение в процесс приготовления усовершенствованной питательной среды (ПС) для сохранения и поддержания исходных свойств выделенного штамма молочнокислых бактерий, накопления биомассы микробных культур на стадиях процесса приготовления готовой формы препарата, а также разработку и внедрение в технологический процесс новой операции по приготовлению стабилизированной рабочей культуры (СРК) из посевной микробной культуры, выращенной глубинным способом в бутылках.

Материалы и методы исследования.

В работе использовали штаммы микроорганизмов рода лактобацилл (Р-3 и Р-6) из коллекции культур НИИ Микробиологии МО РФ.

Для выращивания штаммов лактобактерий с целью оценки их биологических свойств готовили питательные среды на основе сред МРС-1 и МРС-4 в соответствии с методикой, изложенной в ФС на «Лактобактерин сухой».

Посевную рабочую культуру лактобактерий получали путём ряда пересевов сухой эталонной культуры на стандартные питательные среды МРС. На последней



Биотехнология

стадии была приготовлена агаровая культура со смывом её криопротектором, с последующим замораживанием и хранением при температуре минус 20°C.

Культивирование лактобактерий осуществляли в 20-литровых бутылках с жидкой питательной средой МРС-1. Культуры Р-3 и Р-6 в бутылках выращивали методом глубинного периодического культивирования с перемешиванием без аэрации при температуре 37±1°C в течение 48 и 72 часов.

Контроль сред осуществляли по физико-химическим и биологическим показателям.

Результаты исследования.

Исходя из особенностей и способа применения препарата пробиотического действия в птицеводческих хозяйствах, необходима технология получения готовой формы препарата, которая позволяла бы сохранять не менее одного года высокую антагонистическую активность и кислотообразующую способность, быть безвредным, удобным при использовании для сельскохозяйственной птицы. Анализ данных литературы и результаты предварительно проведенных нами испытаний пробиотика на основе лактобактерий в промышленном птицеводстве позволили установить, что минимальной концентрацией живых клеток лактобактерий в готовой форме препарата должно составлять не менее 3×10^9 в мл.

Для получения лечебно-профилактического препарата с заданной концентрацией технология должна включать ряд последовательных стадий для накопления достаточной биомассы лактобактерий. Технологический процесс накопления биомассы из эталонной культуры в наших первоначальных исследованиях, по аналогии с уже известными, принятыми технологиями получения пробиотиков на основе различных штаммов микроорганизмов, состоял из следующих стадий пересева микробных культур:

- получение посевных культур I пересева;
- получение посевных культур II пересева;
- получение посевных культур III пересева;
- приготовление нативной культуры.

В наших экспериментах получение пробиотика на основе лактобактерий по традиционной технологии представлено в виде схемы, отражённой на рис. 1.

Для получения культур I пересева (генерации) лиофилизированные в ампулах эталонные культуры штаммов

Р3 и Р6 регидратировали дистиллированной водой и засеивали в пробирки с жидкой питательной средой МРС-1. Бульонные культуры лактобактерий в пробирках инкубировали при температуре 37±1°C в течение 48 ч.

Для получения культур II пересева бульонные культуры лактобактерий из пробирок пересевали на матрацы со скошенной агаризованной средой МРС-4. Посевы инкубировали при температуре 37±1°C в течение 48 ч.

Для получения культур III пересева агаровые культуры лактобактерий из матрацев пересевали в бутылки с жидкой питательной средой МРС-1. Выращивание посевных культур штаммов Р3 и Р6 в 20-литровых бутылках с коэффициентом заполнения 0,6 осуществляли методом глубинного периодического культивирования с перемешиванием без аэрации при температуре 37±1°C в течение 48–72 часов.

Типичность роста посевных культур I, II и III пересевов оценивали экспрессным способом визуально и микроскопически. В пробирках и 20-литровых бутылках образовывался плотный осадок культуры белого цвета, среда оставалась прозрачной. Культуры лактобактерий на поверхности плотной питательной среды МРС-4 в матрацах формировали газон нежного белесоватого цвета. В мазках, приготовленных из посевных культур и окрашенных по Граму, обнаруживали типичные клетки лактобактерий. Концентрацию лактобактерий в посевных культурах определяли путём подсчёта клеток в камере Горяева.

Последней стадией, позволяющей накопить необходимую для создания препарата биомассу, являлось выращивание штаммов лактобактерий в аппаратах-культиваторах. Для этого бульонные культуры III пересева помещали в аппараты-культиваторы ёмкостью 250 л с коэффициентом заполнения 0,6 с последующим выращиванием в жидкой питательной среде МРС-1 глубинным способом.

Однако многостадийность процесса и недостаток времени на всестороннюю оценку и контроль чистоты посевных культур на каждой стадии не позволял нам получать в большинстве случаев доброкачественную продукцию в необходимых промышленных объёмах из-за низкой концентрации бактерий. При этом брак как по кондиции материала, так и по чистоте составлял почти 25%.

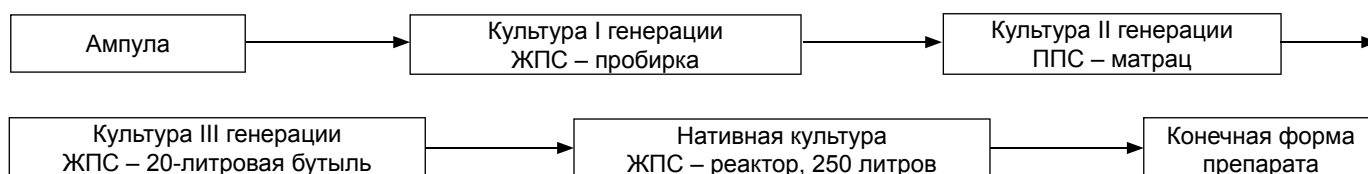


Рис. 1. Схема приготовления пробиотика по традиционной технологии

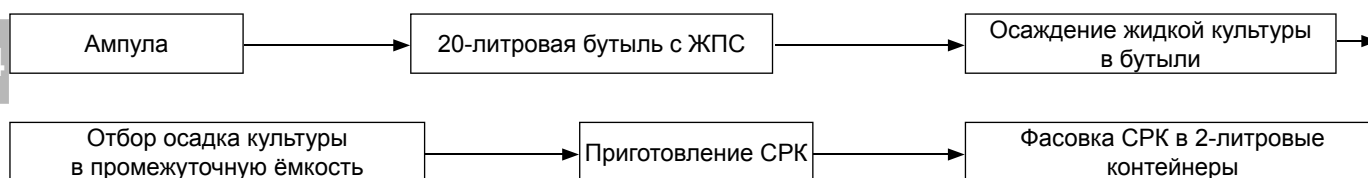


Рис. 2. Схема приготовления стабилизированной рабочей культуры по новой технологии



В дальнейших исследованиях с целью получения пробиотика со стабильными свойствами нами был отработан способ приготовления и хранения посевной рабочей замороженной культуры с одновременным сокращением стадий получения посевной культуры.

Следует отметить, что наиболее сложным этапом исследований являлась наработка экспериментальных и установочных серий биопрепарата лактобактерий, отработка методов контроля его качества и разработка НТД на производство и контроль пробиотика для орального применения.

Основная задача при наработке биопрепарата состояла в обеспечении производства штаммами, эталонными и посевными культурами, стабильно сохраняющими биологические свойства.

С этой целью для получения посевного материала нами была разработана технология приготовления стабилизированной рабочей культуры. Разработанная нами технология приготовления СРК сокращала количество промежуточных этапов, тем самым снижала долю брака из-за загрязнения ПМФ, повышала степень однородности посевной культуры по ОК, БК, рН и увеличивала сроки её хранения с 48 часов до 6 месяцев. СРК готовили по схеме, представленной на рис. 2.

На основании опыта работы по обеспечению посевным материалом аппаратов-культиваторов вместимостью 250 литров наиболее удобным для хранения и использования посевного материала является металлический контейнер вместимостью 2 литра, позволяющий хранить 0,8 – 1,0 л СРК. Выбор оптимальной концентрации микробов в СРК осуществляли с учётом требуемой посевной дозы, создаваемой в реакторе объёмом 0,25 м³ и составляющей не менее 0,4 млрд клеток в мл по БК. Экспериментально было установлено, что содержание в СРК не менее 20 млрд живых микробов в мл обеспечивало необходимую посевную дозу при введении в реактор содержимого 1-2 контейнеров.

Для получения требуемой концентрации микробов в СРК суспендированную эталонную культуру из ампулы помещали в 20-литровую бутылку и выращивали в ней в течение 48 часов, а затем концентрировали путём седиментации при температуре 2-8°C в течение 20-24 часов. В процессе отстаивания в холодильнике определяли чистоту культуры для целесообразности дальнейшей работы с полученной суспензией лактобактерий. Образовавшийся осадок отбирали в промежуточную ёмкость и вводили стабилизирующие растворы по разработанной нами прописи.

Готовую СРК со стабилизирующими добавками разливали стерильно в 2-литровые металлические контейнеры, замораживали и хранили в холодильной камере при температуре минус 18 – 22°C. Условия замораживания и хранения были выбраны с учётом многолетнего опыта работы с культурами микроорганизмов.

Результаты опытов по выращиванию лактобактерий в 20-литровых бутылках в процессе приготовления стабилизированных рабочих культур отражены в табл. 1.

Концентрацию клеток лактобактерий в процессе выращивания в бутылках определяли в камере Горяева. Результаты опытов свидетельствуют о достаточном накоплении микробов к 48 часам культивирования.

Таблица 1
Динамика накопления биомассы лактобактерий при выращивании в 20-литровых бутылках (n=30)

Питательная среда	Штамм	Концентрация жизнеспособных лактобактерий ($X \pm I_{95}$) на ... час культивирования, млрд микр. кл·см ⁻³				
		0	12	24	36	48
МРС-1	P3	1,1±1,1	5,3±2,4	12,5±3,8	19,7±3,9	20,1±3,7
	P6	2,7±0,9	8,3±2,3	16,6±3,5	25,6±3,6	26,4±2,9

Результаты оценки выживаемости штаммов P3 и P6 лактобактерий в составе свежеприготовленных и хранившихся стабилизированных рабочих культур представлены в табл. 2.

Таблица 2
Характеристики свежеприготовленных и хранившихся при температуре минус 20°C стабилизированных рабочих культур штаммов лактобактерий (n=12, $X \pm I_{95}$)

Исследуемая культура	Концентрация жизнеспособных микробов, млрд кл·мл ⁻¹	
	P6	P3
Микробная суспензия свежеприготовленная	51,7±1,8	35,6±2,7
Замороженная, хранившаяся в течение:	6 мес.	47,5±1,5
	12 мес.	34,2±2,3
		25,4±1,7
		18,2±3,7

Концентрацию клеток лактобактерий после приготовления СРК и в процессе хранения при минус 20°C определяли путём высевов соответствующих разведений культур на плотную питательную среду в чашки Петри.

Заключение. Результаты опытов, представленных в табл. 2, свидетельствуют о том, что микробные культуры штаммов P3 и P6 лактобактерий в составе выбранных нами стабилизирующих добавок обладают достаточно высокой устойчивостью к замораживанию и хранению при температуре минус 20°C. Наибольшее количество живых микробов нами зафиксировано к 6 месяцам хранения культур в замороженном состоянии. В дальнейшей работе в качестве посевных культур нами использовались всесторонне оцененные СРК, хранившиеся при температуре минус 20°C не более 6 месяцев.

Предварительно проведённый расчёт показал, что посев в аппарат-культиватор объёмом 250 л. (рабочий объём 150 л.) двух контейнеров СРК с концентрацией 38-45 млрд в мл живых микробных клеток обеспечивает посевную дозу более 0,4 млрд живых клеток в мл.

В противоположность этому при использовании в качестве посевного материала культуры, выращенной в 20-литровой бутылки с БК 8-10 млрд в мл, для засева 250-литрового аппарата-культиватора потребуется 6-8 бутылей, что явно увеличивает материальные затраты, а самое главное – повышает долю брака из-за вероятности загрязнения посторонней микрофлоры.

Контактная информация:
Тихонов И.В., tixonov_iv@mail.ru



МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ФОТОАКТИВИРУЕМЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С ЛИПИДНЫМ БИСЛОЕМ АНАЛОГА ЛЕЦИТИНА

Впервые изучен процесс связывания новых фотоактивируемых флуоресцентных красителей ФФК-813 и ФФК-814 с липидными мембранами с помощью метода молекулярной динамики. Представлены описание и параметры взаимодействий этих красителей с липидами. Выявлены особенности поведения красителей при движении сквозь липидную мембрану, что важно для окрашивания клеток препаратов в медицине человека и животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: молекулярное моделирование, фотоактивируемые флуоресцентные красители, липидный бислои, мембрана.

M.S. BARTOV, S.Yu. ZAITSEV

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

P.E. VOLYNSKY

Establishment of the Russian Academy of Sciences Institute of bioorganic chemistry named after academicians M.M. Shemjakin and Ju.A. Ovchinnikov of the Russian Academy of Sciences

MOLECULAR MODELING OF THE PHOTOACTIVE FLUORESCENT DYES INTERACTIONS WITH POPC LIPID BILAYERS

The binding process of the new photoactive fluorescent dyes PFD-813 and PFD-814 with lipid membranes is studied by the molecular dynamic method for the first time. The description and parameters of these dyes interaction with lipids are presented. The specific features of the dye's behavior during their movement through the lipid membrane are revealed that is important for cell samples staining in human and animal medicine.

KEY WORDS: molecular modeling, photoactive fluorescent dyes, lipid bilayers, membrane.

Введение. Одним из перспективных и активно развиваемых направлений современной биохимии и «инструментальной» биологии является разработка и применение фотоактивируемых флуоресцентных красителей (ФФК), обладающих селективными свойствами окрашивания тканей, клеток и субклеточных органелл [1, 2]. Актуальным подходом к решению указанных задач является введение в молекулы родаминов тиаамидных и N-нитрозотиаамидных групп, что дает возможность синтезировать ФФК вначале в т.н. «закрытой» (или «спирочлененной») бесцветной форме и способствует повышению их мембранной проницаемости. Облучение светом с $\lambda \geq 375$ нм вызывает раскрытие пятичленного цикла и регенерирует окрашенную флуоресцентную форму. Изменяя мощность и локализацию облучающего света, можно варьировать число и пространственное расположение образовавшихся флуоресцентных «зондов», следить за их движением, определять форму и взаимное расположение клеточных и субклеточных объектов, помеченных этими красителями [3-5].

Новые ФФК были синтезированы под руководством В.Н. Белова в Макс-Планк-Институте биофизической химии (г. Гёттинген, ФРГ). Детали синтеза и свойства ФФК-813 и ФФК-814 опубликованы в работе [2], а их химическая структура приведена на рис. 1. Различие двух соединений заключается в присутствии в полярной -COOR части молекулы метильной группы в соединении ФФК-813 вместо протона в ФФК-814.

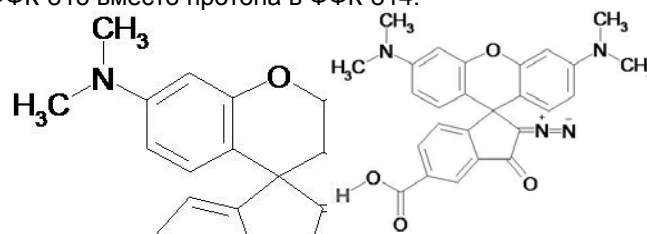


Рис. 1. Химическая структура ФФК-813 (слева) и ФФК-814 (справа)

Показано, что способность окрашивания клеточных органелл присутствует у обоих красителей, при этом эффективность окрашивания зависит от способа их до-



ставки в клетку (используемого растворителя). Ранее было доказано, что используемые растворители повышают проницаемость мембраны для низкомолекулярных соединений [6]. Это позволяет предположить, что основным механизмом проникновения красителей в клетку является свободная диффузия, облегченная воздействием используемых растворителей. В этом случае важным аспектом прохождения через мембрану является взаимодействие «ФФК-липидный бислоем», поскольку липидная составляющая имеет большое значение при свободной диффузии низкомолекулярных соединений через мембрану.

Причина отличий в активностях исследуемых красителей при использовании одинаковых растворителей может заключаться в различной эффективности диффузии через мембрану, что в свою очередь может быть обусловлено отличиями взаимодействий «ФФК-мембрана» на атомном уровне. Таким образом, исследование взаимодействий «ФФК-липидный бислоем» является важным этапом для понимания отличий.

Основным липидным компонентом клеточных мембран является 1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолин (ПОФХ). В данной работе исследован первый шаг – взаимодействие ФФК с бислоем ПОФХ, дальнейшие эксперименты могут касаться взаимодействия растворителя с красителем и липидным бислоем и степени его влияния на проницаемость мембраны.

Цель работы – компьютерное моделирование взаимодействия ФФК-813 и ФФК-814 с модельным липидным бислоем ПОФХ методом молекулярной динамики (МД), изучение отличий в их взаимодействии для понимания процесса транспорта новых ФФК через клеточную мембрану.

Материалы и методы. На первом этапе с помощью программы Maestro (Schrodinger) были созданы молекулярные топологии красителей ФФК-813 и ФФК-814. Корректность топологий проверяли в расчетах МД в вакууме и в воде в течение 10 нс.

В качестве модели биологической мембраны был использован предварительно уравновешенный бислоем ПОФХ (128 молекул). Топология липида была взята из базы данных веб-сайта <http://moose.bio.ucalgary.ca>.

Расчеты МД проводились в программном пакете GROMACS 4.0 [7,8] со стандартным силовым полем GROMOS96 [9], специально адаптированном для липидов. Уточнение зарядов атомов проведено с помощью программы для квантово-химических расчетов Gaussian 03W [10] в базе HF/6-31 G(d).

Для просмотра модельных структур использовались программы визуализации VMD и PyMOL.

Моделирование взаимодействия красителей с мембраной проводили следующим образом: 1) Молекулы красителя встраивали в ячейку с уравновешенным бислоем на разную глубину. 2) Удаляли из системы молекулы воды и/или липидов, перекрывающиеся с красителем. 3) Уравновешивали систему в течение 100 пс МД с нагреванием от 5 до 300 К. 4) Проводили расчет МД длительностью 10 нс.

Все расчеты МД проводили при постоянной температуре (300 К) и давлении (1 бар), которые поддерживали с использованием термостата и баростата Берендсена. Моделирование проводили с использованием периоди-

ческих граничных условий. Шаг интегрирования 2 фс. Для учета дальнедействующих невалентных взаимодействий использовали метод двойной отсечки (10/12 Å). Длительность каждого расчета составляла 10 нс. Всего для каждого красителя было проведено по 5 расчетов МД с различным стартовым положением относительно бислоя ($d = 10, 0, -5, -10, -15$ Å, где d – расстояние от центра красителя до положения фосфатов). При моделировании из воды ($d=10$ Å) и с интерфейса мембраны ($d=0$ Å) для увеличения статистики к системе добавляли по две молекулы красителя с разных сторон бислоя.

Для анализа взаимодействия красителей и фосфолипидов были получены и проанализированы данные по изменению положения красителя относительно бислоя во времени и радиальной функции распределения молекул красителя относительно воды.

Результаты и обсуждение. Для оценки связывания красителей с бислоем ПОФХ проведено моделирование их встраивания со стартовым положением в воде (рис. 2). Начальное расположение молекул одинаковое, оно изображено на рис. 2а. Конечные положения динамики встраивания для ФФК-813 показаны на рис. 2б, для ФФК-814 – на рис. 2в.

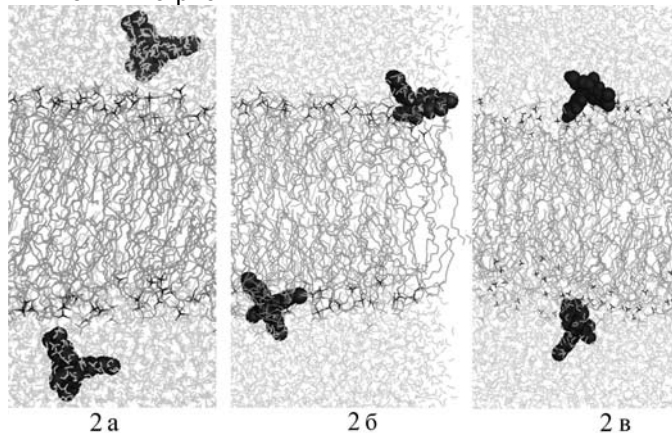


Рис. 2. Моделирование встраивания со стартовым положением красителя в воде (а – стартовое положение молекул, б – конечное положение ФФК-813, в – конечное положение ФФК-814).

Ассоциация молекул красителя на мембрану произошла за первые 350 пс расчета (расстояние до интерфейса d уменьшилось до 2 Å и в дальнейшем не увеличивалось). Данные анализа указывают на существование определенной моды взаимодействия ФФК-813 с бислоем ПОФХ. При этом одно из гидрофобных колец погружено в гидрофобную область мембраны, а полярная $-\text{COOCH}_3$ группа ($-\text{COOR}$ группа) взаимодействует с полярной областью мембраны и водой. Это состояние наблюдалось для одной из молекул красителя на протяжении более чем половины времени МД. В другом состоянии (которое также наблюдается и для ФФК-814) полярная $-\text{COOR}$ группа взаимодействует с полярной областью мембраны, а гидрофобные кольца расположены в водной фазе и при этом гораздо более подвижны.

Однако на данном этапе в ходе МД не наблюдалось проникновения молекулы красителя в глубь мембраны, он оставался связанным с ее поверхностью. Это позволяет предположить наличие некоего энергетического барьера, препятствующего движению красителя. Для

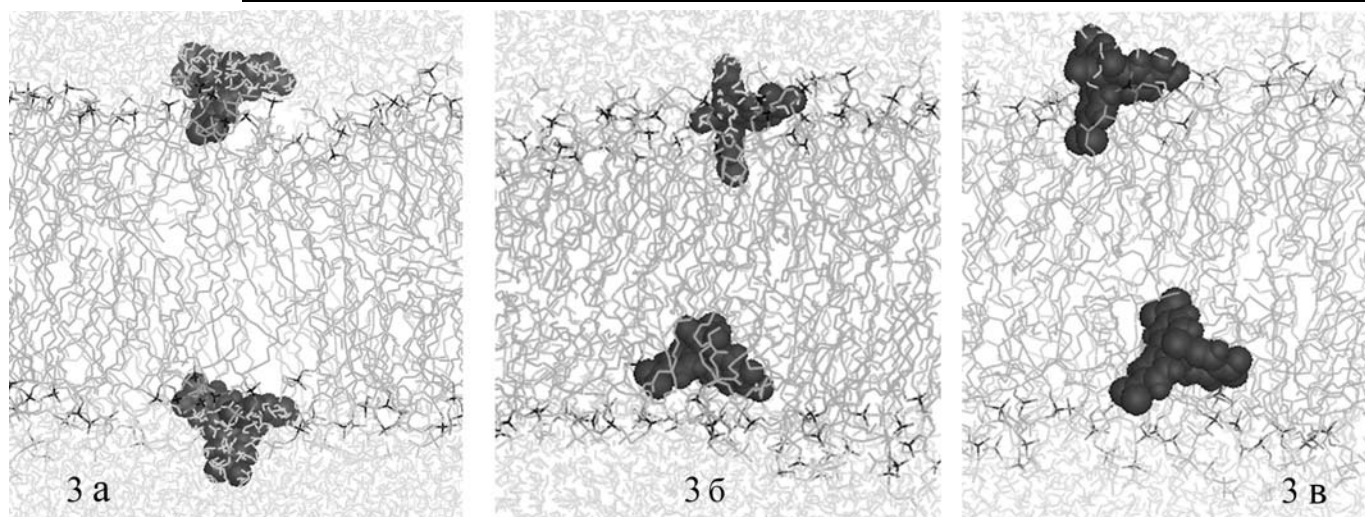


Рис. 3. Моделирование встраивания со стартовым положением красителя на поверхности бислоя (а – стартовое положение красителей, б – конечное положение ФК-813, в – конечное положение ФК-814)

дальнейшего изучения поведения красителя его встраивали на разную глубину мембраны.

Было проведено встраивание молекул исследуемых красителей на разную глубину гидрофобной области фосфолипидного бислоя. В случае МД со стартовым расположением красителей в неполярной области бислоя ($d < -5 \text{ \AA}$) наблюдалась общая тенденция – краситель дрейфовал в области ацильных цепей мембраны и наиболее часто располагался в центре бислоя – в области пониженной плотности мембраны.

В случае старта из области интерфейса мембрановода динамическое поведение красителя зависело от его стартовой ориентации относительно мембраны. На рис. 3а изображено одинаковое для обеих молекул красителя стартовое положение на интерфейсе мембраны, на рис. 3б – промежуточное положение ФК-813 в динамике, на рис. 3в – ФК-814 в динамике.

Видно, что «нижние» молекулы прошли полярную область мембраны и проникли в нижний монослой. Следует отметить, что для этих молекул в стартовом состоянии полярная $-\text{COOR}$ группа была ориентирована внутрь мембраны и, следовательно, частично десольватирована. В случае сольватированной $-\text{COOR}$ группы («верхние» молекулы) такого встраивания в мембрану не наблюдается. Это позволяет предположить, что основную роль в создании барьера играет десольватация $-\text{COOR}$ группы.

Анализ радиальных функций распределения молекул воды относительно $-\text{COOR}$ групп показал, что в случае ФК-813 сольватация меньше. Это означает, что для этой группы характерна также меньшая энергия десольватации ФК-813, и, таким образом, для этого красителя можно предположить более высокую скорость проникновения через мембрану.

Заключение. Впервые построены молекулярные топологии исследуемых красителей ФК-813 и ФК-814. Качественно охарактеризованы параметры взаимодействия изучаемых красителей с липидным бислоем ПОФХ методом МД. Установлены возможные причины отличий при проникновении красителей через мембрану.

Работа выполнена в лаборатории моделирования биомолекулярных систем Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН).

Авторы выражают искреннюю благодарность В.Н. Белову (Макс-Планк-Институт биофизической химии, г. Гёттинген, ФРГ) за синтез образцов ФК и докт. ф.-м. наук Ефремову Р.Г. (ИБХ РАН) за ценный вклад в обсуждение данной работы.

Список литературы

1. Hell S.W. Far-Field Optical Nanoscopy // *Science*. 2007. V. 316. P. 1153–1158.
2. Boyarskiy V.P., Belov V.N., Medda R., et al. Photostable, Amino reactive and water-soluble fluorescent labels based on sulfonated rhodamine with a rigidized xanthene fragment // *Chem. Eur. J.*, 2008. V. 14. P. 1784 – 1792.
3. Molho J.I., Herr A.E., Mosier B.P., et al. Optimization of turn geometries for microchip electrophoresis // *Anal. Chem.*, 2001. V. 73. P. 1350–1360.
4. Paul P.H., Garguilo M.G., Rakestraw D.J. Imaging of pressure- and electrokinetically driven flows through open capillaries // *Anal. Chem.*, 1998. V. 70. P. 2459–2467.
5. Willis R.C. Portraits of life: one molecule at a time. // *Anal. Chem.*, 2007. V. 79. P. 1785–1788.
6. Коваленко Г.В., Коваленко И.Ф., Линник Т.П. Механизм транспорта ДМСО, глицерина и этиленгликоля через мембраны эритроцитов крысы и кролика // *Вестник Харьковского государственного университета им. В.Н. Каразина*, 2009. Вып. 10. №878, С. 109-116.
7. Spoel D., van Buuren A.R., Berendsen H.J. et al. Gromacs User Manual, <ftp://ftp.gromacs.org/pub/manual/manual-3.3.pdf>, version 3.3.
8. Spoel D., Lindahl E., Hess B. et al. GROMACS: fast, flexible, and free // *J. Comput. Chem.*, 2005. V. 26. P. 1701-1718.
9. Schuler L.D., Van Gunsteren W.F. On the choice of dihedral angle potential energy functions for n-alkanes // *Molecular Simulation*, 2000. V. 25. P. 301-319.
10. Shubin Liu, Ph.D. Introduction to gaussian and gaussView, research computing, ITS, 2005.

Контактная информация: Бартов М.С.,
e-mail: _ariman_@list.ru, т.: 89100022952



УДК 541.183.022

С.Л. БОГЗА, С.Ю. СУЙКОВИнститут физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко
Национальной академии наук Украины, Донецк, Украина**С.Ю. ЗАЙЦЕВ**ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины
и биотехнологии имени К.И. Скрябина»**НОВЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СТРУКТУРЫ
С 2,3-БЕНЗОБЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫМИ ФРАГМЕНТАМИ**

Экспериментальными и расчетными методами исследовано влияние заместителей в катионах 3-алкоксибензо[с]пирилия на размер образующегося цикла в реакциях с гидразином, а также влияние заместителей в 2,3-бензодиазепинах на энергию их конформационных переходов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нейродегенеративные расстройства, производные бензодиазепина, эпилепсия, метилкетоны, гидразин.

S.L. BOGZA, S. Yu. SUIKOV

Institute of Physical Organic and Coal Chemistry named L.M. Litvinenko NAS Ukraine

S.Yu. ZAITSEV

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

**NOVEL BIOLOGICALLY ACTIVE SUPRAMOLECULAR STRUCTURES
WITH 2,3-BENZODIAZEPINE FRAGMENTS**

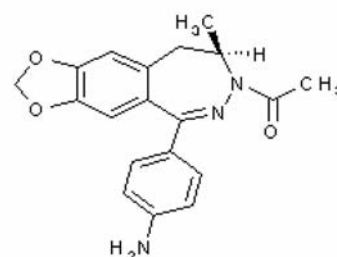
The novel 2,3-benzodiazepine derivatives were synthesized and characterized. These derivatives are promising for use as drugs in human and animal medicine.

KEY WORDS: neurodegenerative disorders, benzodiazepine derivatives, epilepsy, methyl ketones, hydrazine.

Введение. 2,3-Бензодиазепины (гомофталазины) – важнейший класс биологически активных соединений, активно исследующийся с момента синтеза по настоящее время [2-5]. Большой интерес к производным этой гетероциклической системы проявился с открытия их способности к неспецифическому связыванию с AMPA-, NMDA- и GABA-субсайтами рецептора [2]. Особое внимание сейчас уделяют созданию на основе 2,3-бензодиазепинов селективных антагонистов и аллостерических модуляторов AMPA-рецепторов – перспективных нейротропных агентов для лечения и профилактики эпилепсии, ишемии, болезней Паркинсона и Альцгеймера [3]. В настоящее время заканчиваются клинические испытания препарата TALAMPANEL (IVAX, USA) для лечения нейродегенеративных расстройств. В частности, транквилизаторы ряда 2,3-бензодиазепина отличаются селективностью действия и отсутствием большинства побочных эффектов по сравнению с препаратами на основе других производных бензодиазепина.

Материалы и методы. Синтез исходных компонентов детально описан в ряде работ сотрудников ИНФОРМАНУ [4-8]. В данном кратком сообщении основное внимание уделено одной из проблем введения 2,3-бензодиазепинов в медицинскую практику – повышение

селективности реакции циклизации ортоацилированных арилуксусных кислот или соответствующих метилкетонов с гидразином и замещенными гидразинами, т. к. одновременно с семичленным циклом образуются производные 2-аминоизохинолина, причем иногда со значительными выходами – до 40–50% [4].



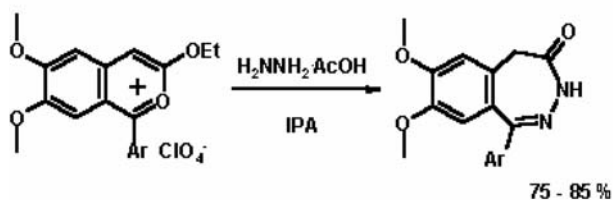
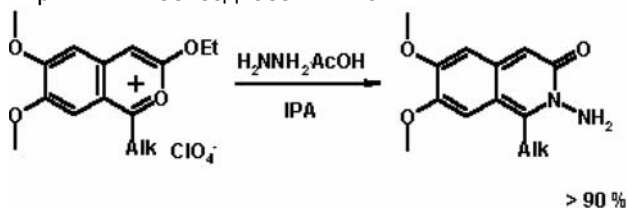
Talam panel

Одно из направлений наших исследований последних лет – выяснение причин образования семи- или шестичленных циклов при взаимодействии 2-арилзамещенных арилацетатов (1) и 3-алкоксибензо[с]пирилиевых солей (3) с гидразинами. Было найдено, что циклизация кетоз-

фиров и рециклизация пирилиевых солей идут по разным механизмам: кетозфилов – через промежуточное образование кетогидразидов (2), солей пирилия – через образование гидразонов (4) [5].

Вода, содержащаяся в гидразингидрате, также снижает выход бензодиазепина. Использование ацетата гидразина для рециклизации солей 1-арил-3-алкоксибензо[с]пирилия вместо гидразингидрата позволило нам получить 2,3-бензодиазепин-4-оны с общими выходами до 80%.

Результаты и обсуждение. Впервые нами детально исследовано влияние заместителей в 3-алкоксибензо[с]пирилиевых солях на размер образующегося цикла. При использовании ацетата гидразина перхлораты 1-алкил-3-алкоксибензо[с]пирилия с высокими выходами превращаются в изохинолины, 1-арил-3-алкоксибензо[с]пирилия – в бензодиазепин-4-оны.



Ar: Ph, 2-Cl-Ph, 4-Me-Ph

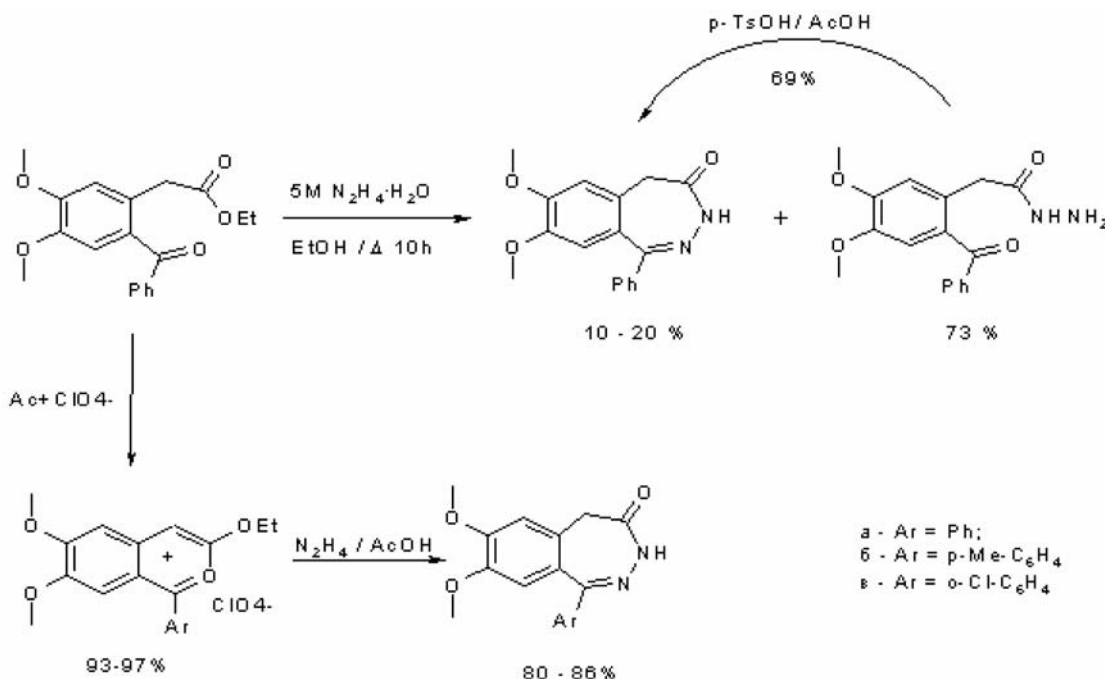
Тем не менее, в литературе есть примеры образования 1-алкилзамещенных 2,3-бензодиазепинов из солей бензо[с]пирилия, содержащих заместитель в положении 4 или цикл при атомах 3 и 4 [6-9].

В ряде этих примеров положение 4 замещено акцептором, и нет данных, влияет ли на образование семичленного цикла заместитель в целом или его электронно-акцепторные свойства.

Для выяснения природы влияния заместителя в положении 4 катиона пирилия на размер цикла, который образуется при рециклизации гидразином, мы провели модельные реакции солей 1-метил-, 1-фенил- и 1-метил-4-этил-3-алкоксибензо[с]пирилия с ацетатом гидразина и метилгидразином в уксусной кислоте.

Из схемы видно, что введение нейтрального этильного заместителя в положение 4 соли направляет реакцию в сторону образования семичленной структуры. Вероятно, влияние заместителя на направление реакции заключается в нарушении планарности интермедиата при раскрытии пиранового цикла молекулой гидразина и увеличивает расстояние между карбонильными фрагментами. Даже в реакции с метилгидразином, который, как правило, реагирует с производными бензо[с]пирилия с образованием 2-аминоизохинолинов, перхлорат 1-метил-3-этокси-4-этилбензо[с]пирилия превращается в диазепинон с довольно высоким выходом – 65–70%.

Наш вывод подтвердился проведенным анализом поверхностей потенциальной энергии конформационных переходов для 2,3-бензодиазепин-4-онов. Наибольшее влияние на высоту барьера (максимальная дестабилизация планарной структуры) оказывает заместитель в положении 5, заместители в положениях 1 и 3 значительно менее эффективны.



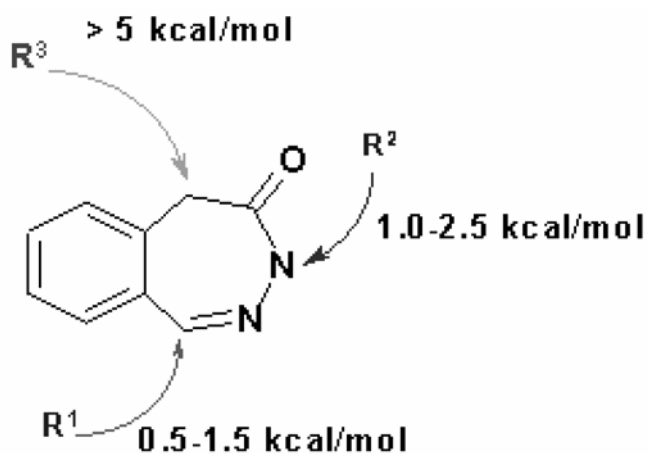
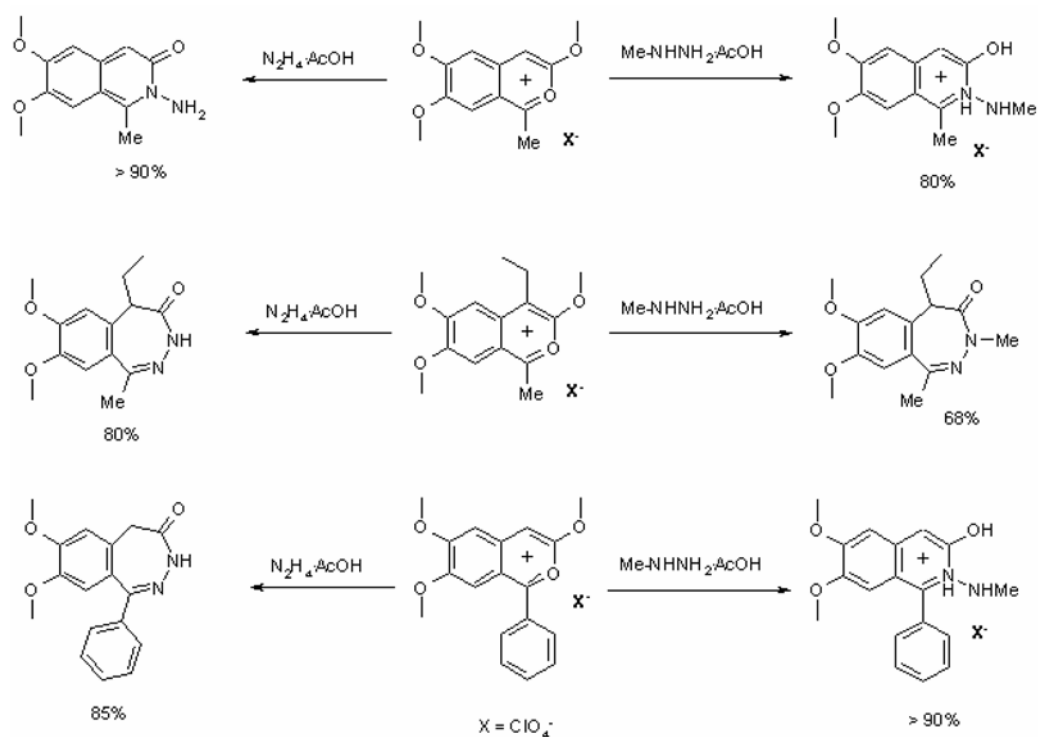


Рис. Влияние заместителей на барьеры конформационных переходов в модельной структуре 2,3-бензодиазепин-4-она

Заключение. Новые соединения, полученные в результате работы, обладают высокой биологической активностью. В частности, транквилизаторы ряда 2,3-бензодиазепина отличаются селективностью действия и отсутствием большинства побочных эффектов по сравнению с препаратами на основе других производных бензодиазепина. В настоящее время заканчиваются клинические испытания препарата Talampanel для лечения

нейрогенеративных расстройств. Таким образом, синтезированные новые производные 2,3-бензодиазепинов являются перспективными лекарственными средствами для использования в медицине человека и животных.

Список литературы

1. Muller A., Lempert-Sreter M., Karczag W.A. // J. Org. Chem., 1954. Vol. 19. P. 1533-1547.
2. Gizella A., Solyom S., Csuzdi E. et al. // Bioorg. Med. Chem. 2000. Vol. 8. №8. P. 2127-2144.
3. Elger B., Huth A., Neuhaus R. et al. // Turski. J. Med. Chem., 2005. Vol. 48. P. 4618-4627.
4. Gitto R., Zappala M., De Sarro G., Chimirri A. // Il Farmaco Ed. Sci, 2002. Vol. 57. P. 129-134.
4. Zappala M., Postorino G., Mikale N. // J. Med. Chem., 2006. Vol. 49. №2. P. 575-58.
5. Popov V.Yu., Hyzhan A.I., Khabarov K.M. et al. // Dokladi NANU Ukrainy (Reports of NAS of Ukraine), 2008. №1. С. 143-146.
6. Bogza S.L., Nikolyykin Yu.A. // Chem. Heterocyclic Comp., 1995. Vol. 29. P. 1268-1270.
7. Bogza S.L., Suikov S.Yu., Bogdan N.M. et al. // Chem. Heterocyclic Comp., 2004. Vol. 40, P. 1421-1426.
8. Богза С.Л., Малиенко А.А., Зубрицкий М.Ю. и др. // Орг. хим., 1996. Т. 32, С. 596-603.
9. Bogza S.L., Suikov S.Yu., Bogdan N.M. et al. // Chem. Heterocyclic Comp. Vol., 2004. Vol. 40. P. 1300-1304.

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



ОКРАШИВАНИЕ КЛЕТОК НОВЫМИ ФОТОАКТИВИРУЕМЫМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМИ КРАСИТЕЛЯМИ

Фотоактивируемые флуоресцентные красители (ФФК) – новый класс фотоактивируемых красителей, которые изначально существуют в нефлуоресцирующей «закрытой» форме. ФФК могут быть легко преобразованы во флуоресцентное («открытое») состояние облучением при длине волны 408 нм. Окрашивание клеток ФФК при концентрации 5 мкг/мл было продемонстрировано на примере кератиноцитов человека (клеточная линия HaCaT).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: флуоресцентные красители, фотоактивация, окрашивание клеток, внутриклеточные структуры, флуоресцентная микроскопия.

S.Yu. ZAITSEV, M.N. SHAPOSHNIKOV

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named K.I. Skryabin

E.V. SVIRWEVSKAJA

Establishment of the Russian Academy of Sciences Institute of bioorganic chemistry named after academicians M.M. Shemjakin and J.A. Ovchinnikov of the Russian Academy of Sciences

CELL STAINING BY NOVEL PHOTOACTIVATED FLUORESCENT DYES

Photoactivated fluorescent dyes (PFD) is a novel class of photoactivatable dyes originally that exist in the non-fluorescent «closed» form. The PFD can be easily transform to fluorescence («open») state by 408 nm irradiation. The cell staining by PFD at concentration 5 µg/ml was demonstrated on the example of human keratinocytes (cell line HaCaT).

KEYWORDS: fluorescent dyes, photoactivation, staining of cells, intracellular structures, fluorescent microscopy.

Введение. На сегодняшний день существует несколько классов флуоресцентных красителей, которые активно применяются в биологии и медицине. Требования, которые предъявляют исследователи к этим красителям, довольно жесткие: это и определенные спектральные свойства (способность излучать в определенной области), и химическая стабильность (например, для использования в автоматическом ДНК-синтезаторе), и биологическая инертность (отсутствие неспецифических взаимодействий) [1-3].

Флуоресцентные красители поглощают свет одной длины волны, а излучают свет другой длины волны. Даже небольшое число флуоресцирующих молекул можно выявить по свечению на темном поле, если такое вещество облучить светом, длина волны которого совпадает с длиной волны света, поглощаемого красителем, и затем для анализа использовать фильтр, пропускающий свет с длиной волны, соответствующей свету, излучаемому красителем. Высокая интенсивность излучаемого света является характерной особенностью таких молекул. Применение флуоресцирующих красителей для окраски клеток предполагает использование специального флуоресцентного микроскопа [4].

Фотоактивируемые флуоресцентные красители (ФФК) изначально существуют в нефлуоресцентной «закрытой» форме, что способствует повышению их мембранной проницаемости, которая может быть преобразована

во флуоресцентное «открытое» состояние облучением светом с длиной волны ≥ 375 нм [5-7].

Целью данной работы являлось исследование новых фотоактивируемых флуоресцентных красителей (ФФК) – производных родамина, обеспечивающих возможность окрашивания клеток и субклеточных структур.

Материалы и методы. Новые типы фотоактивируемых флуоресцентных красителей были синтезированы под руководством В.Н. Белова (Макс-Планк-Институт биофизической химии, Гёттинген, ФРГ); поэтому основные параметры синтеза и физико-химические характеристики этих ФФК уже опубликованы [6, 7]. В данной работе представлены 2 новых ФФК (813 и 814) в сравнении со стандартным флуоресцентным красителем – тетраметилродамином (TMP).

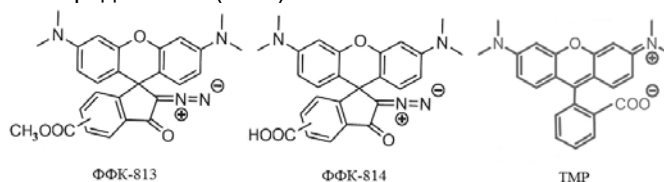


Рис. 1. Структурные формулы новых ФФК-813, 814 (спиросочлененной формы) и стандартный флуоресцентный краситель TMP

На примере ФФК-813 показан фотолиз «закрытой» (замаскированной) формы красителя, который сопровождается



ется отщеплением азота и присоединением воды, приводящих к флуоресцирующей форме красителя (рис. 2).

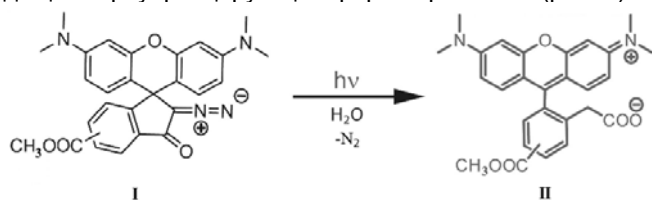


Рис. 2. Схема фотолиза ФФК-813 [6]

В конфокальной микроскопии фотолиз ФФК может происходить под действием возбуждающего лазера синего света с $\lambda = 408$ нм [5-7].

Обработку метода окрашивания проводили на линии клеток кератиноцитов человека HaCaT, предварительно выращенных в ячейках планшета на покровных стеклах в Институте биорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

Красители ФФК-813 и 814 растворяли в ДМСО и ДМФА. Краситель TMP растворяли в воде. Полученные растворы (2 мг/мл) разводили в воде до концентрации 200 мкг/мл. Красители добавляли в ячейки планшета с предварительно выращенными на покровных стеклах монослоями клеток в необходимых объемах для получения различных концентраций растворов в ячейках: 0,02; 2,5; 3; 5 и 10 мкг/мл. Клетки инкубировали с красителями 30 мин. в CO_2 -инкубаторе. На последние 15 мин. добавляли ядерный краситель Hoechst 33342 (Sigma). После этого клетки фиксировали при помощи 1% ПФА 15 мин., далее отмывали клетки фосфатным буфером. Образцы фиксировали на предметном стекле при помощи Mowiol 4.88 (Calbiochem., Дармштадт, Германия) и хранили ночь при 4°C для полной полимеризации. Образцы анализировали на конфокальном микроскопе Eclipse TE2000 (Nikon).

Результаты и их обсуждение. Первыми задачами данного исследования явились отработка методики окрашивания клеток HaCaT препаратами ФФК-813 и 814 и условий их микрофотографирования на конфокальном микроскопе. На всех микрофотографиях: синий – ядерный краситель «Хехст» – необходим для лучшей визуализации отдельных клеток.

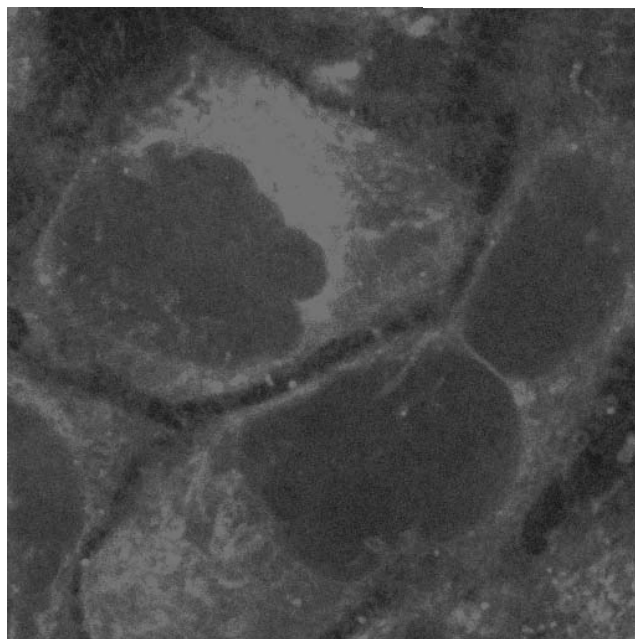
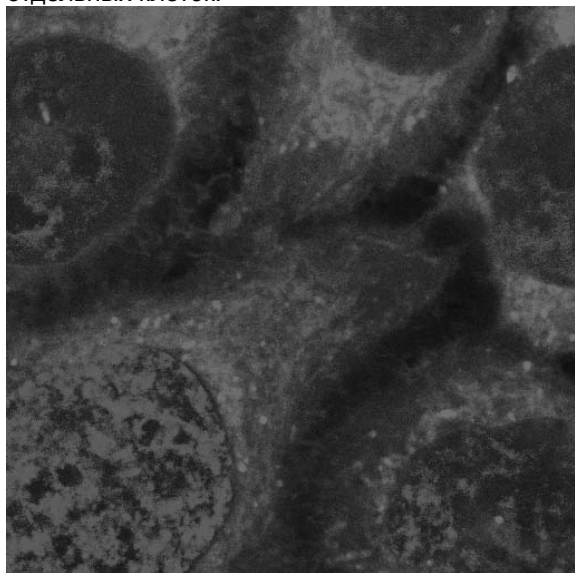
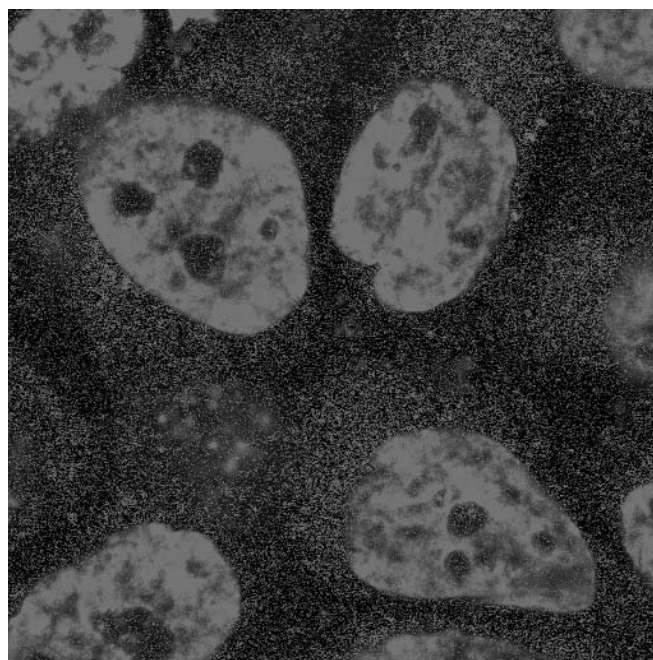


Рис. 3. Клетки HaCaT окрашены ФФК 813, 5 мкг/мл, синим окрашены ядра клеток. Растворители ДМФА (слева) и ДМСО (справа)

При концентрации ФФК-813 5 мкг/мл наблюдали оптимальное окрашивание монослоя клеток. ФФК-813, растворенный в ДМФА, дает равномерную окраску субклеточных структур. По-видимому, основными окрашиваемыми субклеточными структурами является эндоплазматический ретикулум, митохондрии и комплекс Гольджи.

На рис. 4 монослой клеток, окрашенный ФФК 814 (концентрация 5 мкг/мл). Следует отметить общую низкую интенсивность окрашивания, что указывает на слабое связывание красителя с субклеточными объектами. Использование ДМСО как растворителя для ФФК-813 дает более интенсивное окрашивание.



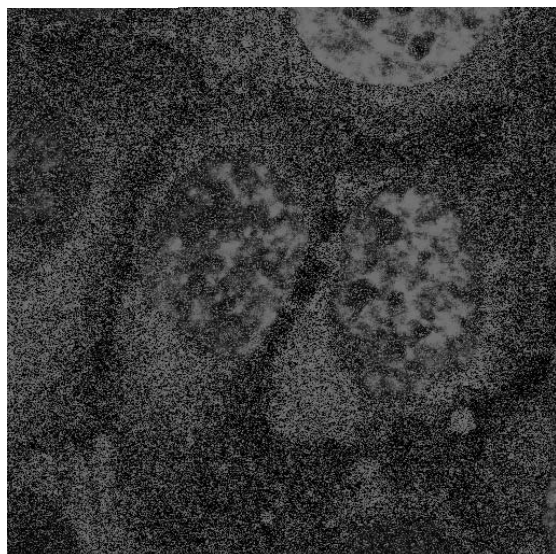


Рис. 4. Клетки HaCaT окрашены ФФК 814, конц. 5 мкг/мл, синим окрашены ядра клеток. Растворители ДМФА (слева) и ДМСО (справа)

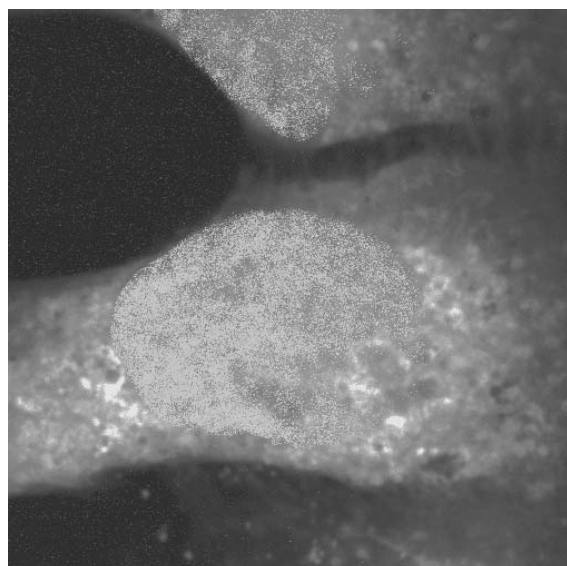
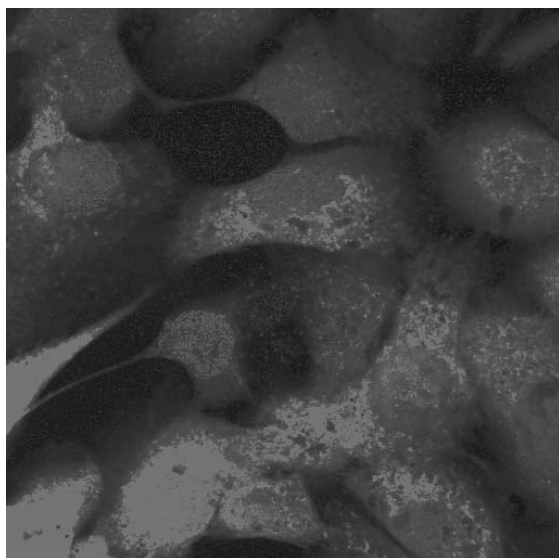


Рис. 5. Клетки окрашены TMP, конц. 5 мкг/мл, синим окрашены ядра клеток. X1000 (слева) и X3000 (справа)

Важно было сравнить полученные данные новых ФФК с окрашиванием клеток известными производными типа TMP. На рис. 5 виден окрашенный TMP монослой клеток, увеличенный в 1000 раз (слева) и в 3000 раз (справа). При меньшем увеличении хорошо различимы отдельные клетки монослоя, чему способствовало равномерное яркое окрашивание TMP. При большем увеличении субклеточные объекты выглядят практически неразличимо и нечетко.

Выводы. Таким образом, отработан метод окрашивания клеток на линии клеток кератиноцитов человека HaCaT. Впервые показано связывание ФФК-813 и ФФК-814 с клетками и внутриклеточными структурами. Исследование препаратов клеток методом флуоресцентной микроскопии позволило подобрать оптимальную концентрацию ФФК (5 мкг/мл) и условия окрашивания. Разработанные подходы и методики уже использованы для исследования органов и тканей животных.

Список литературы

1. Paul P.H., Garguilo M.G., Rakestraw D.J. Imaging of pressure- and electrokinetically driven flows through open capillaries // *Anal. Chem.* – 1998. V. 70. P. 2459-2467.
2. Molho J.I. et al. Optimization of turn geometries for microchip electrophoresis // *Anal. Chem.*, 2001. V. 73. P. 1350-1360.
3. Willis R.C. Portraits of life: one molecule at a time // *Anal. Chem.*, 2007. V. 79. P. 1785-1788.
4. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. Молекулярная биология клетки. / М.: Мир, 1996, Т. 1. С. 517.
5. Белов В.Н., Зайцев С.Ю. // *Ветеринарная медицина*, 2010. №1. С. 10-13.
6. Boyarskiy V.P., Belov V.N., Medda R. Photostable, amino reactive and water-soluble fluorescent labels based on sulfonated rhodamine with a rigidized xanthene fragment // *Chem. Eur. J.*, 2008. V. 49. P. 1784-1792.
7. Belov V. N., Wurm C.A., Boyarskiy V.P. Rhodamines NN: a novel class of caged fluorescent dyes // *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010. V. 49. P. 3520-3523.

Контактная информация: Зайцев С.Ю.
s.y.zaitsev@mail.ru, 377-95-39

**Е.Ю. ФЕДОРОВА**

ФГОУ ВПО «Курская государственная сельскохозяйственная академия имени профессора И.И. Иванова»

В.В. МОСЯГИН, В.И. МАКСИМОВ

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

АТФАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ МОЛОКА КОРОВ РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД

В результате биохимических исследований определения активности основных транспортных ферментных систем (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} - и HCO_3^- -АТФаз) компонентов мембраны молочных шариков, выявлена зависимость активности АТФаз молока от породной принадлежности животных и сезона года.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АТФаза, молоко, коровы.

E.Y. FEDOROVA,*Kursk state agricultural academy named professor I.I. Ivanov***V.V. MOSYAGIN, V.I. MAKSIMOV***Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin*

ATPASE ACTIVITY OF MILK COWS OF DIFFERENT BREEDS

Determine the activity of major transport enzyme systems: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} - and HCO_3^- -ATPase membrane components of milk, found the dependence of ATPase activity of milk from the breed composition of animals and season of the year.

KEYWORDS: ATPase, milk, cows.

Анализ имеющихся литературных данных свидетельствует о различиях по физико-химическим и биохимическим показателям молока коров разных пород, что, по-видимому, обусловлено неодинаковым уровнем обменных процессов в организме животных. Поскольку образование молока связано с большим расходом энергии, интенсивность секреторных процессов может зависеть от активности транспортных АТФаз. Имея ключевое значение в энергетике, данные ферментативные системы играют решающую роль во всех биологических процессах организма, в связи с чем изучение их функциональных активностей в молоке является актуальной задачей [1, 3].

В настоящее время накоплено достаточно доказательств того, что оболочка жировых шариков молока построена по типу биологической мембраны, поэтому активность ее транспортных АТФаз может характеризовать уровень метаболических процессов в молочной железе [2].

Кроме того, транспортные аденозинтрифосфатазы занимают особое место в транспорте ионов и сопряженном с ним транспорте предшественников компонентов молока, в связи с чем можно предположить, что от их активности будет зависеть состав молока. Неодинаковая активность АТФаз молока коров различных пород может явиться фактором, влияющим не только на физико-химические свойства секрета, но и на соотношение фракций молочного белка, его аминокислотный состав, а также технологические показатели [6].

Несмотря на то, что технологическим свойствам молока последние десятилетия уделено значительное внимание, в литературе не нашла отражения зависимость физико-химических, биохимических и технологических

свойств молока от активности АТФаз в его мембранных компонентах.

В связи с изложенным нами поставлена задача изучить активность всех транспортных АТФаз мембранных компонентов молока, их влияние на технологические свойства сырья.

Материалы и методы. Для выполнения поставленной задачи были проведены эксперименты на 2-х группах коров-аналогов (по возрасту, массе тела, происхождению и развитию) в количестве 10 голов в каждой. В первую группу вошли коровы черно-пестрой породы, во вторую – симментальской. Животные обеих групп находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Рационы опытных коров были сбалансированы по питательным, минеральным и витаминным компонентам, а также содержанию основных аминокислот.

Активность транспортных АТФаз мембранных компонентов молока, позволяющую судить о метаболической активности молочной железы, определяли в средах, рекомендованных А.Т. Иващенко, И.А. Бушневой [5].

Неорганический фосфат в мембранных компонентах молока определяли по Лоури и Лопецу (1946), рассчитывая его содержание по уравнению регрессии. Содержание белка определяли спектрофотометрическими методами [4].

Определение содержания калия и натрия в молоке проводили пламенно-фотометрическим методом на приборе ППФ. Значения интенсивности спектральных линий элементов находили по пикам, полученным в результате фотометрирования стандартных растворов и образцов молока.

Полученные данные подвергали статистической обработке по общепринятому критерию Стьюдента [5], достоверными признавали результаты при $p < 0,05$.



Результаты и обсуждение. Исследованиями установлен различный уровень ферментативной активности транспортных АТФаз мембранных компонентов молока коров черно-пестрой и симментальской пород (табл. 1).

Анализ табл. 1 показывает достоверную разницу ($P < 0,001$) активности Mg^{2+} -АТФазы молока коров сравниваемых пород. Так, в молоке коров черно-пестрой породы она составила $13,39 \pm 1,05$, симментальской – $14,67 \pm 0,98$.

Таблица 1

Активность Mg^{2+} -АТФазы ($x \pm S_x$, нМРi/мг Рt/мин.) мембранных компонентов молока коров сравниваемых пород

Порода коров	Активность, нМРi/мг Рt/мин.			
	Mg^{2+} -АТФаза	Na^+, K^+ -АТФаза	Ca^{2+} -АТФаза	HCO_3^- -АТФаза
Черно-пестрая	$13,39 \pm 1,05$	$22,35 \pm 0,99$	$18,72 \pm 1,07$	$13,99 \pm 1,05$
Симментальская	$14,7 \pm 0,98$	$26,80 \pm 0,96$	$19,79 \pm 0,87$	$15,22 \pm 0,99$

Активность Na^+, K^+ -АТФазы достоверно ($P < 0,001$) выше активности Mg^{2+} -АТФазы и составляет в группе коров черно-пестрой породы $22,35 \pm 0,99$, симментальской – $26,80 \pm 0,96$. В молоке симменталов активность Na^+, K^+ -АТФазы достоверно ($P < 0,001$) выше, чем в молоке черно-пестрых коров.

Выявлена достоверная ($P < 0,001$) разница активности Ca^{2+} -АТФазы молока коров черно-пестрой ($18,72 \pm 1,07$) и симментальской ($19,79 \pm 0,87$) пород. Уровень активности Ca^{2+} -АТФазы достоверно ($P < 0,001$) выше активности Mg^{2+} -АТФазы и ниже активности Mg^{2+}, Na^+, K^+ -АТФазы молока коров обеих групп.

Активность HCO_3^- -АТФазы в молоке коров черно-пестрой породы составляет $13,99 \pm 1,05$, что достоверно ($P < 0,001$) ниже активности молока коров симментальской породы – $15,22 \pm 0,99$. Уровень активности HCO_3^- -АТФазы в обеих группах достоверно ($P < 0,001$) ниже активности Mg^{2+}, Na^+, K^+ -АТФазы и Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТФазы.

Поскольку активность Na^+, K^+ -АТФазы, а также в определенной степени Ca^{2+} -АТФазы, является основным фактором, влияющим на межклеточный обмен электролитов, было определено соотношение $K : Na$ в оболочках жировых шариков и цельном молоке (табл. 2).

Содержание калия в молоке коров обеих пород достоверно ($P < 0,001$) выше содержания натрия и составляет в группе черно-пестрых коров $140 \pm 3,1$, в группе симменталов – $150 \pm 3,5$. Содержание натрия в молоке коров первой группы $35 \pm 2,3$; второй – $50 \pm 2,1$. Выявлена межпородная разница по содержанию данных макроэлементов в молоке животных опытных групп ($P < 0,05$). Содержание калия в мембранных компонентах молока коров обеих пород также несколько выше содержания натрия ($P < 0,01$). В группе черно-пестрых коров содержание калия в мембранных компонентах молока составляет $28,9 \pm 1,9$, натрия – $20,5 \pm 1,6$; в группе симментальских коров – $39,0 \pm 2,4$ и $28,6 \pm 2,1$ соответственно.

Помимо межпородных различий исследованиями установлен неодинаковый уровень активности транспортных АТФаз молока в зависимости от сезона года (табл. 3, 4).

Таблица 2

Соотношение $K : Na$ ($x \pm S_x$, мг/100 г) в мембранных компонентах и цельном молоке коров сравниваемых пород

Исследуемые пробы	Калий		Натрий	
	Ч/п порода	Сим. порода	Ч/п порода	Сим. порода
Молоко	$140 \pm 3,1$	$150 \pm 3,5$	$35 \pm 2,3$	$50 \pm 2,1$
Мембрана жировых шариков	$28,9 \pm 1,9$	$39,0 \pm 2,4$	$20,5 \pm 1,6$	$28,6 \pm 2,1$

Максимальная АТФазная активность молока коров черно-пестрой породы выявлена в зимние месяцы, минимальная – в весенние. На протяжении всего года соотношение между активностями отдельных АТФаз остается почти неизменным. Наибольшей активностью отличается Na^+, K^+ -АТФаза: зима – $29,39 \pm 0,54$; весна – $22,35 \pm 0,99$; наименьшей – HCO_3^- -АТФаза: зима – $15,82 \pm 0,55$; весна – $13,98 \pm 1,05$ (табл. 3).

Таблица 3

АТФазная активность ($x \pm S_x$, нМРi/мг Рt/мин.) молока коров черно-пестрой породы в зависимости от сезона года

Сезон года	Mg^{2+} -АТФаза	Na^+, K^+ -АТФаза	Ca^{2+} -АТФаза	HCO_3^- -АТФаза
Зима	$16,05 \pm 0,95$	$29,39 \pm 0,54$	$21,81 \pm 0,55$	$15,82 \pm 0,55$
Весна	$13,39 \pm 1,05$	$22,35 \pm 0,99$	$18,72 \pm 1,07$	$13,98 \pm 1,05$
Лето	$14,62 \pm 0,00$	$27,51 \pm 1,06$	$20,80 \pm 1,04$	$15,45 \pm 0,73$
Осень	$14,96 \pm 0,31$	$28,30 \pm 0,52$	$21,78 \pm 0,30$	$15,49 \pm 0,30$
Среднее за год	$14,76 \pm 0,58$	$26,89 \pm 0,78$	$20,78 \pm 0,74$	$15,19 \pm 0,66$

Таблица 4

АТФазная активность ($x \pm S_x$, нМРi/мг Рt/мин.) молока коров симментальской породы в зависимости от сезона года

Сезон года	Mg^{2+} -АТФаза	Na^+, K^+ -АТФаза	Ca^{2+} -АТФаза	HCO_3^- -АТФаза
Зима	$16,13 \pm 0,49$	$29,68 \pm 0,49$	$22,91 \pm 0,49$	$16,69 \pm 0,49$
Весна	$14,67 \pm 0,98$	$26,80 \pm 0,96$	$19,79 \pm 0,87$	$15,25 \pm 0,99$
Лето	$15,11 \pm 0,87$	$27,35 \pm 0,76$	$22,70 \pm 0,87$	$16,63 \pm 0,88$
Осень	$15,60 \pm 0,52$	$28,65 \pm 0,53$	$22,38 \pm 0,00$	$16,30 \pm 0,31$
Среднее за год	$15,38 \pm 0,72$	$28,12 \pm 0,69$	$21,95 \pm 0,56$	$16,22 \pm 0,67$

Как видно из табл. 4, аналогичная закономерность изменения АТФазной активности в течение года наблюдается и в молоке коров симментальской породы.



Наивысшая активность Na^+, K^+ -АТФазы отмечена зимой – $29,68 \pm 0,49$; наименьшая – весной – $26,80 \pm 0,96$. Максимум активности HCO_3^- -АТФазы приходится также на зимние месяцы – $16,69 \pm 0,49$; минимум – на весенние – $15,25 \pm 0,99$.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о присутствии в молоке основных транспортных ферментативных систем: Na^+, K^+ , Ca^{2+} - и HCO_3^- -АТФаз. Уровень активности данных ферментативных систем, как показали исследования, находится в зависимости как от породной принадлежности животных, так и от сезона года.

Заключение

Порода коров, сложившаяся под влиянием ряда факторов, характеризуется некоторым постоянством химического состава молока, что, очевидно, связано с неодинаковым уровнем обмена веществ и окислительно-восстановительных процессов в организме животных [6].

Энергетические процессы в молочной железе тесно связаны с лактационной функцией. При образовании молока в вымени коров расходуется большое количество энергии, снабжение которой в основном происходит за счет АТФ, расщепляемой АТФазой. Только различных солей с каждым литром молока секреторится $8,22$ г, и для их переноса через множество клеточных мембран против градиента концентрации необходимо затратить немало энергии.

Поскольку важнейшая роль в ионном транспорте принадлежит АТФазам, можно с уверенностью утверждать, что они имеют непосредственное отношение к секреторным процессам в молочной железе. Затраты энергии при осуществлении процесса экструзии готового секрета очень велики, причем большая роль в этом отводится фосфатазам, обнаруживаемым на апикальных плазматических мембранах секреторных клеток [2].

Как показали наши исследования, функциональная активность транспортных аденозинтрифосфатаз мембранных компонентов молока является критерием уровня метаболических процессов в молочной железе и синтеза основных компонентов секрета.

Полученные данные, характеризующие активность АТФаз мембранных компонентов молока, подтверждают предположение ряда авторов о существовании определенной зависимости АТФазной активности оболочек жировых шариков от их количества и размеров. Более высокая на протяжении всей лактации концентрация жировых шариков в молоке коров симментальской породы, по-видимому, в некоторой степени обусловила и повышенную активность транспортных АТФаз их оболочек. Кроме того, молоко симментальских коров отличалось большими размерами жировых глобул по сравнению с молоком черно-пестрых коров.

Имеющиеся в доступной литературе немногочисленные данные свидетельствуют о зависимости активности Na^+, K^+ -АТФазы молока от ряда зоотехнических факторов: породы, кормления, стадии лактации [9, 10]. Однако единичные работы по данному вопросу не отражают зависимости активности всех транспортных АТФаз молока от породной принадлежности животных, а также сезона года.

Низкая активность всех исследованных нами АТФаз в группе черно-пестрых коров свидетельствует о сниже-

нии транспортных потоков предшественников молока через мембрану секреторной клетки, следствием чего, по-видимому, явился неодинаковый химический состав молока коров черно-пестрой и симментальской пород, что подтверждается работами ряда авторов [6, 8].

Выявленная нами низкая АТФазная активность весеннего молока коров обеих пород, по-видимому, обусловлена ухудшением качества кормов, отсутствием на протяжении длительного периода моциона, солнечного облучения, а также физиологическим состоянием животных в весенние месяцы.

Повышение активности транспортных ферментативных систем, а, следовательно, и интенсивности обмена веществ в организме животных обеих пород в осенний и начальный зимний периоды связано с высоким уровнем накопления питательных веществ в организме, а также с периодом лактации. Аналогичная закономерность наблюдается и в изменении качества молока коров сравнимых пород, обусловленного, в первую очередь, его химическим составом. Высокое содержание таких основных компонентов молока, как жир, белок, лактоза, кальций, фосфор отмечено нами в осеннем и зимнем молоке коров обеих пород; низкое – в весеннем, что согласуется с данными ряда авторов [8].

Таким образом, учитывая, что такие факторы, как кормление, условия содержания, возраст и стадия лактации для обеих пород животных были одинаковы, можно предположить, что сезонные колебания АТФазной активности и состава молока исследуемых животных зависят от их породных особенностей. Не исключена, помимо прочего, возможность влияния на активность транспортных АТФаз мембранных компонентов молока целого ряда специфических активаторов и ингибиторов, уже известных в настоящее время или еще не открытых.

Список литературы

1. Антонов В.Ф. Мембранный транспорт // Соросовский образовательный журнал, 1997. № 6. С. 14-20.
2. Богатова О.В., Догарева Н.Г. Химия и физика молока: Учебн. пос. Оренбург: ГОУ ОГУ, 2004. 137 с.
3. Владимиров Ю.А. Кальциевые насосы живой клетки // Соросовский образовательный журнал, 1998. № 3. С. 20-27.
4. Дарбре А. Практическая химия белка. М.: Мир, 1989. 623 с.
5. Иващенко А.Т., Бушнев И.А. Выделение и свойства аниончувствительной аденозинтрифосфатазы из мембран эритроцитов // Биохимия, 1981. Т. 46. Вып. 3. С. 486-488.
6. Кузнецов А., Кузнецов С. О технологических свойствах молока коров // Молочное и мясное скотоводство, 2010. № 2. С. 5.
7. Матющенко П. У молочной железы особый «нрав» // Животноводство России, 2007. № 3. С. 6.
8. Улимбашев М. Влияние генетических и паратипических факторов на продуктивные качества коров // Молочное и мясное скотоводство, 2009. № 8. С. 9.
9. Шугам Н.А., Гусева Н.М. Активность и биологическое значение транспортной ферментной системы Na^+, K^+ -АТФазы молока коров // Вопросы ветеринарной биологии: Сб. науч. тр. МВА. М.: МВА, 1992. С. 20-23.
10. Lutsenko S., Kaplan J.H. Organization of P-type ATPases: Significance of structural diversity // Biochemistry, 1995. 48. № 5. P. 15607-15613.

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



ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВЕЖЕСТИ РЕАЛИЗУЕМОГО ЖИРА

Одной из важнейших задач ветеринарно-санитарной экспертизы является оценка показателей качества топленых жиров животного происхождения. Ветеринарно-санитарную экспертизу пищевых животных жиров проводят для установления сорта (технохимический контроль): установление свежести (доброкачественности), установления видовой принадлежности (натуральности). В процессе хранения жиры могут подвергаться порче. В результате этого ухудшаются товарные свойства жира, кроме того, он может быть опасным для потребителя. При порче жира преобладают два химических процесса – гидролиз (омыление) и окисление (прогоркание).

Ключевые слова: ветеринарно-санитарная экспертиза, пищевые животные жиры, органолептические показатели жира, качественные реакции с нейтральным красным, реакция на альдегиды, перекисное число, кислотное число.

N.N. SEDEGOVA, A.T. VOLKOV, N.N. TRAPEZNIKOVA

The Perm state agricultural academy of a name of academician D.N. Prjanishnikova

EXPRESS METHODS OF THE ANALYSIS FOR DEFINITION OF THE FRESHNESS REALIZED FAT

One of the most important tasks of veterinary-sanitary examination is to assess the quality melted animal fat. Veterinary-sanitary inspection of food of animal fats carry out: to establish the type (technical-chemical controls): the establishment of freshness (benign), the establishment of plant species (natural). During storage of fats can be damaging. As a result, deteriorating commodity properties of fat, in addition, it can be dangerous for the consumer. When damage is dominated by two fat chemical process – the hydrolysis (saponification) and oxidation (rancidification).

KEYWORDS: veterinary-sanitary examination, edible animal fats, organoleptic characteristics of fat, high-quality reaction with neutral red, a reaction to aldehydes, peroxide number, acid number.

Ветеринарная экспертиза топленых жиров животного происхождения включает комплексную оценку качества по органолептическим и лабораторным показателям жира [1].

Цели и задачи. Целью данной работы является определение степени свежести реализуемых жиров, продаваемых на продовольственном рынке.

Задача данного исследования включала в себя:

- **органолептические показатели** (определение цвета, определение вкуса и запаха, определение прозрачности, определение консистенции);

- **лабораторные исследования** (определение перекисного числа, определение кислотного числа), качественные реакции на обнаружение альдегидов и реакции с нейтральным красным.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в лаборатории ветеринарно-санитарной экспертизы кафедр внутренних незаразных болезней и общей химии Пермской государственной сельскохозяйственной академии имени академика Д.Н. Прянишникова. Материалом для исследования служили образцы проб жира-сырца массой по 600 г каждого вида животных (говяжьего, бараньего, свиного), купленные на ОАО «Центральном рынке» города Перми у продавцов Нытвенского и Пермского районов.

Органолептическое исследование [2-4]. Запах и вкус определяли в средней пробе жира при температуре 20°C.

Для определения цвета жир охлаждали до температуры 15-20°C. После чего наносили жир на предметное стекло толщиной приблизительно 5 мм и визуально рассматривали жир в отраженном дневном рассеянном свете.

Определяли прозрачность жира. Для этого в сухую пробирку из бесцветного стекла вносили исследуемый жир, плавил на водяной бане, доводя температуру жира до 60-70°C (расплавленный жир занимал примерно половину объема пробирки). При наличии в жире пузырьков воздуха пробирку выдерживали при вышеуказанной температуре в течение 2-3 минут, а затем просматривали при дневном рассеянном проходящем свете.

Определение консистенции. Консистенцию определяли в общей пробе путем надавливанием металлическим шпателем на жир при температуре 20°C.

Для более точного определения качества пищевых топленых жиров животного происхождения проводили лабораторные работы по **качественным и количественным показателям.**

Реакция с нейтральным красным. *Ход работы.* В фарфоровую ступку помещали 1 г исследуемого жира каждого вида животного, добавляли с 1 см³ 0,01%-ного водного раствора нейтрального красного. Далее содержимое интенсивно перетирали пестиком в течение минуты.

Качественная реакция на альдегиды. *Ход работы.* В пробирку помещали 2 см³ жира, добавляли 2 см³ соляной кислоты с плотностью 1190 кг/см³ и 2 см³ насыщенного раствора резорцина в бензоле. Затем пробирку закрывали резиновой пробкой и перемешивали содержимое.

Определение перекисного числа. В коническую колбу с притертой пробкой вносили 2 г исследуемого жира каждого животного, расплавленного на водяной бане, и приливали по 10 см³ хлороформа и ледяной уксусной кислоты в соотношении 1:1. Затем быстро добавляли



Ветеринарно-санитарные показатели пищевых животных жиров

Виды жира	Органолептические показатели		Лабораторные показатели			
	свежего жира (НТД)	исследуемого жира (опыт)	Качественные показатели		Количественные показатели	
			свежего жира (НТД)	исследуемого жира (опыт)	свежего жира (НТД)	исследуемого жира (опыт)
Говяжий жир	цвет: бледно-желтый вкус и запах: вкус без посторонних привкусов и запахов прозрачность: прозрачный	цвет: бледно-желтый вкус и запах: отсутствие посторонних привкусов и запахов прозрачность: прозрачный	реакция с нейтральным красным: цвет – бежевый реакция на альдегиды: не должно быть красного окрашивания	реакция с нейтральным красным: цвет – бежевый реакция на альдегиды: отрицательная	перекисное число: соответствует не более 0,03 ммоль/кг кислотное число: соответствует не более 1,1%	перекисное число: составило 0,01±0,004 ммоль/кг кислотное число: выявлено 0,64±0,086%
Свиной жир	цвет: белый вкус и запах: вкус без посторонних привкусов и запахов прозрачность: прозрачный	цвет: белый вкус и запах: отсутствие посторонних привкусов и запахов прозрачность: прозрачный	реакция с нейтральным красным: цвет – желтый (слегка зеленоватый) реакция на альдегиды: не должно быть красного окрашивания	реакция с нейтральным красным: цвет – желтый реакция на альдегиды: отрицательная	перекисное число: соответствует не более 0,03 ммоль/кг кислотное число: соответствует не более 1,1%	перекисное число: составило 0,03±0,005 ммоль/кг кислотное число: выявлено 0,64±0,126%
Бараний жир	цвет: бледно-желтый вкус и запах: вкус без посторонних привкусов и запахов прозрачность: прозрачный	цвет: бледно-желтый вкус и запах: отсутствие посторонних привкусов и запахов прозрачность: прозрачный	реакция с нейтральным красным: цвет – бежевый реакция на альдегиды: не должно быть красного окрашивания	реакция с нейтральным красным: цвет – бежевый реакция на альдегиды: отрицательная	перекисное число: соответствует не более 0,03 ммоль/кг кислотное число: соответствует не более 1,2%	перекисное число: составило 0,02±0,004 ммоль/кг кислотное число: выявлено 0,32±0,133%

0,5 см³ насыщенного свежеприготовленного раствора йодистого калия. Закрывали колбу пробкой, смешивали содержимое колбы вращательным движением и ставили в темное место на 3 минуты. Затем вливали в колбу 100 см³ дистиллированной воды, к которой заранее добавляли 1 см³ 1%-ного раствора крахмала. Титровали 0,01 н. раствором гипосульфитом натрия до исчезновения синей окраски.

Для проверки чистоты опыта титрования проводили контрольное определение (без жира).

Определение кислотного числа. В коническую колбу вместимостью 150-200 см³ помещали 3 г исследуемого жира каждого вида животного. Жир расплавляли на водяной бане, приливали 50 см³ нейтрализованной эфирно-спиртовой смеси в соотношении 2:1 и взбалтывали. Добавляли 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина и при постоянном встряхивании титровали 0,1 н. раствором едкого кали до появления отчетливой розовой окраски, не исчезающей в течение 1 минуты.

Результаты исследований и выводы. Пищевые топленые жиры (по органолептическим показателям) соответствовали по цвету: бараний – бледно-желтоватый, говяжий – бледно-желтый, свиной – белый. По запаху говяжий, бараний, свиной имели характерный для данного вида жира, без посторонних примесей. Вкус соответствовал ГОСТ, без постороннего привкуса. Жиры (говяжий, бараний, свиной) в расплавленном состоянии были прозрачными. По консистенции говяжий, бараний жиры были плотными, а свиной мажеобразный (см. табл.).

По лабораторным методам исследования было установлено:

1. Перекисное число говяжьего жира соответствовало 0,01±0,004 ммоль/кг, свиного жира – 0,03±0,005 ммоль/кг, бараньего жира – 0,02 ±0,004 ммоль/кг.

2. Кислотное число говяжьего жира соответствовало 0,064±0,086%, свиного – 0,64±0,126%, бараньего – 0,32±0,133%.

3. Качественные показатели: а) реакция с нейтральным красным говяжий и бараний жиры соответствовала бежевому цвету, проба свиного жира – желтому (слегка зеленого цвета), что свидетельствует о том, что жиры не гидролизировались. Это характеризует свежесть жира; б) качественная реакция на альдегиды. Говяжий, бараний, свиной жиры не изменили окраску. Это свидетельствует об отсутствии альдегидов, что соответствует свежему жиру.

Заключение. Жир-сырец разных видов животных (свиной, говяжий, бараний), приобретенный на продовольственном рынке и расплавленный на водяной бане при температуре 60-70°С, исследованный в лабораторных условиях по органолептическим и химическим показателям, соответствовал по степени свежести свежему.

Предложения. Продукты убоя сельскохозяйственных животных, проверяемые на продовольственном рынке города Перми специалистами лаборатории ветеринарно-санитарной экспертизы (ЛВСЭ), по нашим исследованиям подтверждают соответствие качества.

Список литературы

1. Закон о ветеринарии. V. Защита населения от болезней, опасных для человека и животных, и пищевых отравлениях. Статья 21. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животноводства.
2. Смирнов А.В. Практикум по ветеринарно-санитарной экспертизе: Учебное пособие. СПб: ГИОРД, 2009. 336 с.
3. ГОСТ 8285-91. Жиры животные топленые. Правила приемки и методы испытания.
4. Шапкарин В.В. Биохимия. Лабораторные работы. Кемерово: Кемеровский технологический институт, 2005.

Контактная информация: Трапезникова Н.Н.
trapeznat@mail.ru, 8(342)2796719



ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСА ОВЕЦ, ОБРАБОТАННЫХ ПРЕПАРАТОМ НИАЦИД-ПЛЮС ПРИ СМЕШАННЫХ ИНВАЗИЯХ

В статье представлены материалы, касающиеся изучения действия препарата Ниацид-плюс на ветеринарно-санитарные показатели продуктов убоя овец. Изучена динамика накопления и выведения из организма животных действующего начала препарата после его применения против фасциолеза и других инвазий овец.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фасциолез, смешанные инвазии, ниацид-плюс, овцы.

Ju.A. JUSUFOV, E.N. MILAEV, M.N. MIRZAEV, O.A. ZINOVEV

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

VETERINARNO-SANITARY INDICATORS OF MEAT OF THE SHEEP PROCESSED BY THE PREPARATION NIATCID-PLUS AT MIXED INVASIONS

In article the materials, concerning studying of action of a preparation Niatcid-plus on veterinarno-sanitary indicators of products of slaughter of sheep are presented. Dynamics of accumulation and deducing from an organism of animals of the operating beginning of a preparation after its application against liver fluke [fasciola hepatica] infection and others invasions sheep is studied.

KEYWORDS: liver fluke [fasciola hepatica] infection, mixed invasions, niatcid-plus, sheeps.

Широкое применение в ветеринарии различных лекарственных средств против инфекционных и инвазионных болезней приводит к накоплению их в мясе, молоке и других продуктах животноводства. В связи с этим в последнее время, когда говорят о качестве и полноценности питания, имеют в виду не только сбалансированность по углеводам, белкам, жирам, витаминам и минеральным компонентам, но и по содержанию в пищевых продуктах остаточных количеств фармацевтических средств, применяемых в сельском хозяйстве.

Поэтому важнейшими задачами современной науки являются как создание новых экологически чистых лекарственных средств ветеринарного назначения, так и разработка методических подходов санитарного мониторинга животноводческой продукции. Предлагаемая работа содержит материалы, касающиеся исследований по оценке ветеринарно-санитарных показателей мяса овец, обработанных противопаразитарным препаратом Ниацид-плюс, при смешанных инвазиях. Подопытные животные спонтанно заражены фасциолезом и стронгилятозами. Ниацид-плюс вводили в дозе 1 мл/50 кг массы животного.

В опытах по изучению сроков выведения из организма овец действующей основы препарата (клозантел, абамектин) была сформирована группа из 12 животных (баранчики массой 29-32 кг), которым ввели внутримышечно по 0,5 мл Ниацид-плюс. Через 1, 5, 8, 15, 25 суток после введения препарата забивали по одному животному и готовили пробы внутренних органов и тканей для определения авермектинов и клозантела в них. Для сравнительного анализа ветеринарно-санитарных показателей мяса овец использовали образцы, отобранные от животных через 1 сутки после введения препарата (больные животные), через 15 суток (здоровые животные) и 40 суток после введения препарата (здоровые

животные). Образцы мяса, предназначенные для хроматографического и ветеринарно-санитарного анализа, хранились при минус 12-15°C в холодильнике SANYO. В качестве метода анализа остатков препарата в органах и тканях овец использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию с флуоресцентным детектором, колонкой типа Zorbax ODS (150 × 4,6 мм) и программой «Мультихром».

Полученные данные по фармакокинетике Ниацид+ показывают, что максимальная концентрация авермектинов в плазме крови овец наблюдается через 50-58 часов и составляет 45,7-51,4 нг/мл.

В органах и тканях животных авермектины в максимальном количестве обнаруживаются на 2-3 сутки анализа, далее наблюдается постепенное снижение их количества (табл. 1).

К 15-м суткам опыта наблюдается полная элиминация авермектинов из мышечной ткани, в печени и жировой ткани обнаруживаются следы субстанции.

Таблица 1
Содержание авермектинов в тканях и органах овец, нг/г ткани

Время после введения, сут.	Мышцы	Печень	Жировая ткань
1	43±6	134±16	153±18
5	21±3	59±8	62±11
8	12±2	21±4	32±5
15	0	следы	следы
25	0	0	0

Однако привлекает внимание то, что авермектины избирательно накапливаются в жировой ткани.



Показатели качества мяса овец, пораженных паразитами и обработанных препаратом Ниацид-плюс

Показатель	Время анализа после введения препарата (сутки) и физиологический статус животных		
	1 (больные)	15 (здоровые)	40 (здоровые)
Белки, %	16,4±0,52	17,9±0,48	20,5±0,72
Жиры, %	13,7±0,35	14,6±0,51	16,8±0,46
Влага, %	69,2±0,83	65,5±0,76	60,4±0,73
Сухие вещества, %	31,3±0,42	34,7±0,39	39,3±0,42
Амино-аммиачный азот, мг/100г	80-87	71-76	62-80
ккал/100г	190,16±8,37	204,31±9,32	234,72±12,10
Мазки-отпечатки	Единичные кокки, палочки	Единичные кокки	Единичные кокки

Список литературы

1. *Пиотровский В.К.* // Фармакология и токсикология, 1986, № 3. С. 118-127.
2. *Swan G., Koeleman H., Mulders M.* // J. South Afric Vet Assoc, 1999. 70 (9) 75.
3. *Hennesy D.R., Sangster N.C., Steel J.W., Colling G.N.* // J. Vet. Pharmacol. Therap., 1993, 16 (3). P. 254-260.
4. *Chubasangla J., Shiben C.D., Shyamal K.D. et al. Iranian* // J. of Pharmacologi, 2005. Vol. 4, 2. P. 76-79.

Контактная информация:

*М.Н. Мирзаев, кафедра иммунологии
8(495) 377-54-59*

Для сравнения можно еще раз обратить внимание на известные данные FDA, согласно которым в продуктах мелкого рогатого скота максимальный допустимый уровень (МДУ) концентраций изучаемых субстанций составляет (мкг/кг), клозантел: мышцы – 1500, печень – 1500, почки – 5000, жир – 2000; абамектин: мышцы – 20, печень – 25, почки – 20, жир – 50.

Как видно, через 14 суток после введения препарата Ниацид+ животноводческая продукция содержит остаточные количества ДВ препарата в количествах ниже МДУ.

Полученные нами данные о характере распределения авермектинов и клозантела в органах и тканях экспериментальных животных позволяют определить традиционно контролируемые в фармакологии параметры фармакокинетики субстанций в организме подопытных животных и для этих целей предлагается соответствующая методика определения различных параметров, связанных с расчетом скорости всасывания лекарственных веществ, времени удержания, достижения максимума концентрации и др. [1] Однако для реального практического использования достаточно иметь информацию о конкретных прямо определяемых величинах фармакокинетики контролируемых веществ, т.к. такие данные позволяют выявить истинные остаточные количества лекарственных веществ, представляющих гигиеническую опасность для потребителя животноводческой продукции.

Например, из полученных нами данных следует, что время достижения наиболее высоких значений концентрации авермектинов после инъекции находится в пределах 1,5-2,0 суток. Период полувыведения действующего вещества составляет примерно 4,0-4,5 суток. Те же показатели для клозантела соответствуют 1-3 суткам и 10-12 суткам.

Таким образом, анализируя результаты, полученные при клиническом изучении препарата Ниацид-плюс, можно видеть, что препарат по своим параметрам токсичности, безвредности и степени действия на общий физиологический статус организма животных можно отнести к относительно безвредным препаратам.

Это подтверждают данные о ветеринарно-санитарных и биохимических показателях мяса овец, которым вводили препарат. Ветеринарно-санитарная экспертиза включает осмотр животных перед убоем и послеубойное исследование их туш и органов. Традиционно определяемые показатели мяса подопытных животных представлены в табл. 2.

Как видно, качественные показатели мяса инвазированных животных существенно ниже, чем у здоровых; например, содержание белка и жира в мясе больных овец составляет 16,4% и 13,7%, те же показатели у здоровых овец – 20,5% и 16,8% (табл. 2). Энергетическая ценность мяса животных после лечения от смешанных инвазий значительно повышается – на 23,2%.

Таким образом, изучение остаточных количеств действующего начала препарата Ниацид-плюс при введении его в организм овец показывает, что через 2 недели после применения препарата в органах и тканях животных содержание субстанций ниже МДУ, а по ветеринарно-санитарным показателям мясо больных паразитами животных значительно уступает мясу животных, выздоровевших после обработки препаратом Ниацид-плюс.



К.Х. ПАПУНИДИ

Федеральное государственное учреждение «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных», г. Казань

**ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ В СОЧЕТАНИИ
С МИНЕРАЛЬНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ
ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ИММУНИТЕТА КОРОВ**

Результаты проведенных исследований показали, что применение «Лечебно-профилактического иммуноглобулина» в сочетании с препаратом «Фелуцен» способствует нормализации обмена веществ и повышению показателей клеточного и гуморального иммунитета у коров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иммунитет, обмен веществ, минеральные вещества, нормализация.

S.Yu. SMOLENTSEV

The state educational institution «Mari state university», Ioshkar Ola

K.Kh. PAPUNIDI

Federal official body «Federal centre of toxicological and radiating safety of animals», Kazan

**APPLICATION IMMUNOSTIMULATORS IN A COMBINATION TO MINERAL ELEMENTS
FOR NORMALIZATION OF A METABOLISM AND IMMUNITY OF COWS**

Results of the lead researches have shown, that application of the «Medical-preventive globulin» in a combination to preparation «Felutsen» promotes normalization of a metabolism and increase of parameters cellular immunity at cows.

KEYWORDS: immunity, a metabolism, mineral substances, normalization.

Актуальность. Болезни обмена веществ занимают одно из лидирующих положений среди всех болезней животных. Причиной, нарушения обмена веществ является преимущественно дефицит в рационе микро- и макроэлементов [2].

Заболеваемость животных всегда сопровождается снижением показателей иммунитета, а в свою очередь возникновение нарушений функций иммунной системы является одним из патогенетических механизмов любого патологического процесса. Поэтому в настоящее время является актуальной его коррекция препаратами, обладающими опосредованно иммуномодулирующим действием [1, 3].

Цели и задачи. Целью данных исследований было изучение влияния иммуностимуляторов в сочетании с минеральными элементами на биохимические и иммунологические показатели крови крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований. Научно-производственный опыт был проведен в ГПЗ «Семеновский», где по принципу аналогов были сформированы четыре группы коров в возрасте 2 лет с массой тела 450-500 кг, по 5 животных в каждой группе.

Коровам первой группы был введен внутримышечно препарат «Риботан» в дозе 5 мл на животное с интервалом 24 часа, животным второй группы был введен препарат «Иммуноферан» в дозе 5 мл на животное с интервалом 24 часа. Коровам третьей группы вводили лечебно-профилактический иммуноглобулин в дозе

20 мл на животное с интервалом 48 часов. Четвертая группа служила контролем и содержалась на обычном рационе. Кроме того, коровы первой, второй и третьей групп получали с кормом минеральную добавку «Фелуцен» в форме соли-лизунца, содержащего в своем составе такие минеральные элементы, как цинк, медь, селен, йод, кобальт, кальций, фосфор, магний.

Результаты исследований. Уровень общего белка ($p > 0,05$) в сыворотке крови в течение всего исследования во всех группах находился в пределах границ физиологической нормы 70-90 г/л.

Уровень альбуминов повышался ($p < 0,05$) в ходе эксперимента во всех опытных группах и составил на 90-й день в первой группе $43,6 \pm 0,80$ г/л, во второй – $44,0 \pm 0,94$ г/л и в третьей – $46,1 \pm 0,73$ г/л, что выше первоначального показателя на 34,5%; 40,1% и 40,5% соответственно.

Содержание альфа- и бета-глобулинов также увеличилось на 90-й день в первой группе соответственно на 21,4% ($p < 0,05$) и 20,7% ($p < 0,05$), во второй – на 39,4% ($p < 0,01$) и 15,4% ($p > 0,05$), в третьей – на 44,5% ($p < 0,05$) и 13,9% ($p < 0,05$).

Концентрация гамма-глобулинов на 15-й день достоверно снизилась ($p < 0,01$) в первой группе на 12,2% ($31,6 \pm 0,65$ г/л), во второй – на 14,2% ($30,2 \pm 0,31$ г/л) и в третьей – на 17,2% ($30,9 \pm 0,25$ г/л). Аналогичная картина отмечалась и в другие дни. На 90-й день уровень



гамма-глобулинов был ниже фонового показателя на 32,5% ($p < 0,001$); 26,7% ($p < 0,001$) и 33,5% ($p < 0,001$) соответственно в первой, второй и третьей группах. А в контрольной группе данный показатель составил на 90-й день $37,3 \pm 0,27$ г/л.

Состояние витаминного обмена анализировали по содержанию витаминов А и Е. В ходе исследований содержание витамина Е повышалось ($p < 0,001$) и составляло на 90-й день $2,48 \pm 0,02$ мкмоль/л, $2,50 \pm 0,04$ мкмоль/л и $2,40 \pm 0,05$ мкмоль/л в первой, второй и третьей группах.

Концентрация витамина А также на 90-й день повысилась в первой, второй и третьей группах на 19,4% ($p < 0,001$), 19,7% ($p < 0,001$) и 8,3% ($p < 0,01$). В контрольной группе его уровень на конец опыта составил $0,66 \pm 0,006$ мкмоль/л.

Уровень сахара в крови на 15-й день составил в первой группе $1,37 \pm 0,008$ ммоль/л ($p < 0,001$); во второй – $1,46 \pm 0,004$ ммоль/л ($p < 0,001$) и в третьей – $1,39 \pm 0,003$ ммоль/л ($p < 0,001$). На 90-й день уровень сахара составил в первой группе $1,48 \pm 0,006$ ммоль/л ($p < 0,001$), во второй – $1,52 \pm 0,008$ ммоль/л ($p < 0,001$) и третьей – $1,47 \pm 0,006$ ммоль/л ($p < 0,001$).

В сыворотке крови коров всех групп обнаружили высокое содержание непрямого билирубина, а также и прямой билирубин, что в свою очередь указывает на поражение печени. Содержание непрямого билирубина снижалось и на 90-й день было ниже фонового показателя в первой группе на 41,5% ($p < 0,001$), во второй – на 45,4% ($p < 0,001$) и в третьей – на 44% ($p < 0,001$). В контрольной группе содержание непрямого билирубина составило $7,80 \pm 0,33$ мкмоль/л.

На 75-й и 90-й дни исследования в сыворотке крови первой, второй и третьей групп прямой билирубин обнаружен не был, в то время как в контрольной группе его уровень составил на 90-й день $1,01 \pm 0,001$ мкмоль/л.

В сыворотке крови животных отмечалось высокое содержание кетоновых тел при норме 0,3-1,2 ммоль/л. В ходе исследований их уровень достоверно снижался ($p < 0,001$) и на 90-й день составил в первой группе $0,70 \pm 0,002$ ммоль/л, во второй – $0,65 \pm 0,007$ ммоль/л и в третьей – $0,73 \pm 0,004$ ммоль/л. В контрольной группе содержание кетоновых тел в сыворотке крови составило $1,62 \pm 0,006$ ммоль/л.

Уровень мочевины также повышался и в конце исследований был выше первоначального показателя на 33,5% ($p < 0,001$), 42% ($p < 0,001$) и 40,9% ($p < 0,001$) соответственно в первой, второй и третьей группах.

Анализ щелочного резерва показал, что у животных отмечается смещение данного показателя в сторону ацидоза при норме 19-27 ммоль/л. В ходе исследований данный показатель повышался и в конце опыта был выше ($p < 0,001$) первоначального показателя в первой группе 27,6% ($19,22 \pm 0,95$ ммоль/л), во второй – 27,8% ($19,11 \pm 1,55$ ммоль/л), в третьей – 30,5% ($20,01 \pm 1,13$ ммоль/л), а в контрольной группе данный показатель составил $14,82 \pm 0,90$ ммоль/л.

Общий холестерин повысился на 48,3%, 54% и 47,7% на 90-й день соответственно в первой, второй и третьей группах.

Содержание иммуноглобулинов в опытных группах постепенно увеличивалось в ходе исследований. Так, на 90-й день исследований концентрация иммуноглобулинов А была выше фонового показателя ($p < 0,001$) на

89,4%, 123,7% и 87,9% соответственно в первой, второй и третьей группах, а в контрольной группе его концентрация увеличилась на 7,8% ($1,38 \pm 0,02$ мг/мл).

Уровень иммуноглобулинов М и G во всех опытных группах достоверно увеличился ($p < 0,001$) на 90-й день в первой группе соответственно на 102,8% и 8%, во второй – на 83,9% и 14,1%, а в третьей – на 110% и 22,4%.

Бактерицидная активность сыворотки крови увеличилась в первой группе по сравнению с первоначальными показателями на 15-й день в 1,22 раза ($p < 0,001$), на 45-й день – в 1,37 раза ($p < 0,001$), 60-й день – в 1,45 раза ($p < 0,001$), 75-й день – в 1,41 раза ($p < 0,001$) и на 90-й день – в 1,28 раза ($p < 0,001$). Во второй группе ($p < 0,001$) соответственно в 1,41; 1,86; 1,79; 1,54 и 1,49 раза, а в третьей группе – в 1,63 ($p < 0,001$); 1,85 ($p < 0,001$); 1,70 ($p < 0,001$); 1,78 ($p < 0,001$) и 1,97 раза ($p < 0,001$).

В контрольной группе бактерицидная активность сыворотки крови существенно не изменилась в ходе всего исследования.

Лизоцимная активность сыворотки крови повысилась в первой группе на 90-й исследований в 1,39 раза ($p < 0,001$), во второй группе – в 1,63 раза ($p < 0,001$), в третьей – в 1,71 раза ($p < 0,001$) по сравнению с фоновыми показателями.

Фагоцитарное число и фагоцитарный индекс также повысились во всех опытных группах и на 90-й день исследований были выше первоначальных показателей в первой группе в 1,39 раза ($p < 0,001$) и 1,34 раза ($p < 0,001$), во второй – в 1,55 раза ($p < 0,001$) и 1,26 раза ($p < 0,001$), а в третьей группе – в 1,72 раза ($p < 0,001$) и 1,38 раза ($p < 0,001$). Фагоцитарное число и фагоцитарный индекс в контрольной группе существенно не изменились в ходе проведения исследований.

Относительный уровень Т-хелперов на 90-й день увеличился в первой группе в 1,27 раза ($p < 0,001$), во второй – 1,34 раза ($p < 0,001$) и в третьей – в 1,32 раза ($p < 0,001$) по сравнению с фоновыми показателями.

Абсолютный уровень Т-хелперов также достоверно повысился во всех опытных группах и составил на 90-й день опыта $1,86 \cdot 10^9$ /л ($p < 0,001$), $1,75 \cdot 10^9$ /л ($p < 0,001$) и $1,92 \cdot 10^9$ /л ($p < 0,001$) соответственно в первой, второй и третьей группах.

Относительный уровень Т-супрессоров увеличился на 90-й день в 1,55; 1,62 и 1,77 раза по сравнению с первоначальными показателями соответственно в первой, второй и третьей группах.

Абсолютный уровень Т-супрессоров повысился на 90-й день в первой группе на 53,1% ($p < 0,001$), во второй – на 46,6% ($p < 0,001$) и в третьей группе – на 64,8% ($p < 0,001$) по сравнению с фоновыми показателями.

Относительный уровень Т-лимфоцитов на 90-й день достоверно ($p < 0,001$) повысился в 1,66; 1,43 и 1,63 раза соответственно в первой, второй и третьей группах по сравнению с первоначальными показателями.

Абсолютный уровень Т-лимфоцитов составил на 90-й день исследований в первой группе $2,42 \cdot 10^9$ /л ($p < 0,001$), во второй – на $2,53 \cdot 10^9$ /л ($p < 0,001$), а в третьей группе – $2,65 \cdot 10^9$ /л ($p < 0,001$), что, в свою очередь, выше фонового показателя на 66,8%, 64,2% и 78,1%.

Аналогичные результаты были отмечены и при анализе относительного и абсолютного уровней Т- и В-лимфоцитов в крови опытных животных.



Иммунология

В контрольной группе относительный и абсолютный уровни Т-хелперов, Т-супрессоров, а также Т- и В-лимфоцитов существенно не изменились.

Выводы. Результаты проведенных исследований показали, что применение лечебно-профилактического иммуноглобулина в дозе 20 мл на животное и интервалом 48 часов в сочетании с препаратом «Фелуцен» нормализует обмен веществ и повышает показатели специфической и неспецифической резистентности.

Список литературы

1. Погодаев В.А., Айсанова Б.А. Использование комплексного иммуномодулятора в скотоводстве // Зоотехния, 2008. № 7. С. 6-7.
2. Морякина С.В. Патология репродуктивной функции у молочных коров // Зоотехния, 2008. № 2. С. 16.
3. Яранцева С.Б. Общее состояние и показатели естественной резистентности // Сельскохозяйственная биология. 2008. № 6. С. 91-95.

Контактная информация:
Смоленцев С.Ю. smolentsev82@mail.ru

Онкология

УДК 619:616.072

М.Н. ЯКУНИНА, Е.М. ТРЕЩАЛИНА, В.А. ГОЛУБЕВА, А.А. ШИМШИРТ

Ветеринарная клиника «Биоконтроль» РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У СОБАК И КОШЕК

Анализ историй болезни 112 кошек и 85 собак показал, что возраст появления рака молочной железы (РМЖ) у кошек составляет в среднем $10,9 \pm 0,75$ года, у собак – $8 \pm 0,48$ года. У собак узловая форма роста диагностирована в 61%, диффузная – в 39% случаев, а у кошек – в 90% и в 10% случаев соответственно. Первичные метастазы в лимфоузлах обнаружены в 58% у кошек и 42% собак, а отдаленное метастазирование – у 26% кошек, преимущественно в плевру (75,8%) и у 16,5% собак преимущественно в легкие (36%). Морфологически РМЖ у кошек представлен карциномами простого типа (100%), среди которых низкодифференцированные опухоли составляют 64%. Преобладают аденокарциномы (73,5%). А у собак – комплексного типа (53%), преимущественно высоко- (22%) и умеренно дифференцированной (42%). Выделяют карциному (83%), значительно реже – смешанные злокачественные опухоли (11,3%) и саркомы (5,7%) молочной железы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак молочной железы собаки, кошки.

M.N. YAKUNINA, E.M. TRESCHALINA, V.A. GOLUBEVA, A.A. SHIMSHIRT

Veterinary clinic «Biocontrol» ROSC named N.N. Blohina of the Russian Academy of Medical Sciences

ANALYSIS OF MORBIDITY AND CLINICAL-MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MAMMARY CANCER IN DOGS AND CATS

The analyses of clinical cases of mammary cancer has shown that the median age of occurrence in cats is $10,9 \pm 0,75$ years, in dogs – $8 \pm 0,48$. The nodular form of mammary tumors was diagnosed in dogs in 61% of cases, diffusive form – 30%, in cats – 90% and 10% of cases, respectively. Regional lymph node metastasis were recorded in 58% of cats and 42% of dogs, distant metastasis were found in 26% of cats (75,8% in pleura) and in 16,5% of dogs (in lungs 36%). Morphologically all mammary tumors in cats were simple type carcinomas (low-grade differentiated – 64%), among them adenocarcinoma – 73,5%. In dogs mammary tumors are divided into complex type (53%), mainly high-grade differentiated (22%) and well-grade differentiated type (42%) carcinomas, mixed malignant neoplasms (11,3%) and sarcomas (5,7%).

KEYWORDS: mammary cancer dog, cat.

Рак молочной железы (РМЖ) – наиболее часто встречающаяся онкологическая патология мелких домашних животных. В структуре онкологических заболеваний РМЖ у кошек занимает 3-е место после лимфом и опухолей кожи [4, 6], а у собак – второе после опухолей кожи [5, 6]. У кошек в 86-90% случаев диагностируют аденокарциному молочной железы, в основном простого типа [7], а у собак – в ~50% случаев преимущественно солидную карциному простого или комплексного типа [1, 2]. Пути метастазирования РМЖ – лимфогенный и гематогенный [6]. Поражение регионарных лимфатических узлов при первичном поступлении регистрируют у 40% собак [4] и 80% кошек [5]. Кроме того, опухоль может распространяться по мелким лимфатическим сосудам кожи

и давать кожные метастазы [6]. Гематогенные метастазы выявляют прежде всего в легких (80,5%) и только потом в печени (33%), селезенке и почках (7%), надпочечниках (6%) и костях (2,6%) [1, 2]. У кошек на первом месте метастазы поражают плевру (~70-80%) с развитием опухолевого плеврита (ОП) [4, 7]. Учитывая вышесказанное, настоящее аналитическое исследование посвящено оценке клинической значимости морфологической характеристики местно распространенного и диссеминированного РМЖ у собак и кошек.

Материалы и методы

Ретроспективному анализу подвергнуто 197 историй болезни животных, из них 112 кошек и 85 собак, проходивших лечение в клинике «Биоконтроль», клинике экс-



периментальной терапии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН по поводу РМЖ III и IV стадии. Диагностика РМЖ выполнена с использованием стандартных методов клинического и инструментального обследования (R-графия, УЗИ) с морфологической верификацией. Определение морфологического типа опухоли проведено на основании международной гистологической классификации и номенклатуры опухолей домашних животных 1975 г. [3]. Стадирование выполнено согласно клинической классификации TNM для животных [6].

Клинико-морфологическая характеристика РМЖ кошек

Характеристика группы

В группе 105 кошек (93,1%) и 7 котов (6,9%), из них 23 кошки и 4 кота кастрированы (26%) и 79 кошек и 4 кота не кастрированы (74%). Средний возраст пациентов составил 10, 9±0,75 года (5–17 лет). При этом в возрасте от 5 до 10 лет было всего 16 кошек (7%), а основная группа представлена животными старше 10 лет (93%).

Клиническая характеристика

При первичном поступлении у 83 кошек (74%) диагностировали III стадию РМЖ. Узловая форма роста наблюдалась у 75 (90%), диффузная – у 8 кошек (10%). Диссеминированный РМЖ констатирован у 29 кошек (26%), из них в 75,8% случаев констатировано поражение плевры с развитием ОП. В 13,8% случаев выявлены множественные метастатические узлы в легких, в 10,4% случаев – множественные кожные метастазы на внутренней поверхности бедра (табл. 1).

Таблица 1

Частота метастатического поражения органов и тканей при РМЖ у кошек

Локализация метастазов	Частота метастазирования в группе (n=83)	
	n	%
Легкие	4	13,8
Плевра, ОП	22	75,8
Кожа	3	10,4

Язвенный дефект кожи наблюдался у 34 кошек (41%), при этом в 53% случаев при опухолях ≥3 см. У 49 животных (59%) изменений в коже не выявлено. Верифицированное метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов диагностировано у 48 кошек (58%).

Морфологическая характеристика

При анализе гистологических срезов опухоли у 64 кошек показано, что в 100% случаев это – карцинома. Опухоль по морфологической картине имеет смешанный характер и включает папиллярные, тубулярные, альвеолярные, солидные и угревидные структуры в различных соотношениях. Морфологический тип опухоли определен по преобладающей структуре. Наиболее часто диагностированы аденокарцинома (73,5%), немного реже – солидная карцинома (23,5%) и чрезвычайно редко – плоскоклеточная и анапластическая карцинома (1,5%) (табл. 2).

РМЖ у всех кошек представлен раком простого типа. Низкодифференцированные опухоли отмечены в

64% случаев (n=41), умеренно дифференцированные – в 32,8% (n=21), высокодифференцированные в 3,2% (n=2) случаев.

Таблица 2

Морфологический тип карцином у кошек

Частота	Аденокарцинома		Плоскоклеточная	Солидная	Анапластическая
	Папиллярная	Тубулярная			
n	30	17	1	15	1
%	64	36	1,5	23,5	1,5
Всего	47 (73,5%)				

Клинико-морфологическая характеристика РМЖ собак

Характеристика группы

В группе 84 самки и 1 самец (1,2%). Из них 16 собак (19%) кастрированы и 68 собак (81%) не кастрированы. Средний возраст животных составил 8±0,48 года (6–16 лет), из них 55 собак (65,5%) старше 10 лет и 29 особей (34,5%) – в возрасте от 5 до 10 лет.

Клиническая характеристика

При первичном поступлении у 71-й собаки (83,5%) диагностировали РМЖ III стадии. Диссеминированный РМЖ констатирован у 14 собак (16,5%), из них метастазы в легких выявлены в 36% случаев, в кожу – в 29%, в плевру – в 21%, в парааортальные лимфатические узлы и в кость – в 7% случаев (табл. 3).

Таблица 3

Частота метастатического поражения органов и тканей при РМЖ у собак

Локализация метастазов	Частота метастазирования в группе (n=14)	
	n	%
Легкие	5	36
Плевра, ОП	3	21
Парааортальные л/у	1	7
Кости	1	7
Кожа	4	29

Форма роста опухоли анализирована у 77 собак. Узловая форма роста диагностирована у 52 (61%), диффузная – у 25 собак (39%). Из них воспалительная карцинома молочной железы выявлена в 24%, панцирная форма рака в 4%, диффузно-распространенная форма РМЖ – в 72% случаев (табл. 4).

Язвенный дефект кожи наблюдался у 12 собак (41%) при размере опухоли ≥5 см, у 63 собак (59%) изменения в коже не выявлены. Поражение регионарных лимфатических узлов зарегистрировано у 34-х собак (45%), причем в 64% случаев оно сопровождало диффузную форму РМЖ и только в 36% – узловую.



Таблица 4

Клинические формы РМЖ у собак

Частота	Узловая	Диффузная, n=25 (39%)		
		Диффузно-распространенная	Воспалительная карцинома	Пандирный рак
n	54	18	6	1
%	61	72	24	4

Морфологическая характеристика РМЖ собак

Анализ морфологического типа опухоли с учетом международной гистологической классификации ВОЗ проведен у 53 собак. Наиболее часто диагностированы карциномы молочной железы (83%), из них аденокарцинома – в 61%, а солидная карцинома – в 36,4% случаев. Саркомы молочной железы определены у 5,7% животных, смешанные злокачественные опухоли – в 11,3% случаев (табл. 5).

Таблица 5

Гистологические типы РМЖ у собак

Морфологический тип опухоли		Число наблюдений	%
Карциномы	Аденокарцинома:	27	61,0
	Тубулярная	12	
	Папиллярная	9	
	Тубулярно-папиллярная	6	
	Солидная карцинома	16	36,4
	Анапластическая карцинома	1	2,6
	Всего	44	83,0
Саркомы	Остеогенная саркома	1	33,0
	Хондросаркома	2	67,0
	Всего	3	5,7
Смешанные злокачественные опухоли		6	11,3

46

Опухоли комплексного типа, состоящие из секреторных и миоэпителиальных клеток, у собак составили 53% (n=25), простого типа – 47% (n=24). Степень злокачественности определена у 41-й собаки: высокодифференцированные опухоли зарегистрирована в 22% (n=9), умеренно дифференцированные – в 42% (n=17), низкодифференцированные – в 36% (n=15) случаев.

№3-4, 2010

Заключение

Проведенный анализ заболеваемости раком молочной железы у 85 собак и 112 кошек и котов, прошедших полное клиническое обследование, позволил определить основные характеристики болезни. Показано, что относительно высокий риск заболевания имеют некастрированные животные (74-81%) возрастной группы более 10 лет (65,5-93%). Это дает основания считать стерилизацию кошек и собак потенциальным методом профилактики развития рака молочной железы в старшей возрастной группе. Достаточно большой процент собак и кошек с диссеминированным процессом (16,5-26%), из которых около половины (45-58%) имеют лимфогенные, а 36% – гематогенные метастазы в легкие и плевру, осложненные в 75,8% случаев опухолевым плевритом, что свидетельствует об агрессивном характере болезни. Морфологически выявленные опухоли представлены в основном узловой формой РМЖ, которая встречается у 90% кошек и 61% собак. У 39% собак также диагностируют диффузный РМЖ, особенно у особей с III-IV стадиями болезни. Агрессивность течения РМЖ у кошек выше, чем у собак, что сопряжено с преобладанием у первых низкодифференцированных опухолей, преимущественно простого типа, а у вторых – умеренно (42%) или высокодифференцированные (22%) образования, в 53% комплексного типа.

Список литературы

1. Голубева В.А., Пономарьков В.И. Рак молочной железы собак // Ветеринария, 1988. №2. С. 61-63.
2. Голубева В.А. Рак молочной железы собак (гистология, морфология и лечебный патоморфоз): Дисс. ... канд., 1979.
3. Международная гистологическая классификация опухолей домашних животных // Бюллетень Всемирной организации здравоохранения, 1977. Т. 53. № 2-3. С. 121-264.
4. Hayes A.A., Mooney S. Feline mammary tumors // Vet. Clin. North. Am. Small Animal Pract. 1985. V. 15. P. 513-520.
5. Mitchell L., Wenkoff M. Mammary tumors in dogs: Survey of clinical and pathological characteristics // Can. Vet. J., 1974. V. 15. №5. P. 131-138.
6. Misdorp W. Tumors of the mammary gland // In: Tumors in Domestic Animals / ed. Meuten D.J. Iowa State Press. Ames., 2002. 4th ed. V. IA. P. 575-606.
7. 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.

Контактная информация:
Якунина Марина Николаевна
8 903 758 71 06
e-mail: irsovet@yandex.ru



ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МОНИЕЗИОЗА ДИКИХ И ДОМАШНИХ ПАРНОКОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ АЗЕРБАЙДЖАНА

У диких и домашних парнокопытных животных Азербайджана зарегистрированы *Moniezia expansa*, *M. benedeni* и *M. autumnalis*. В сохранении мониезиезной инвазии в природе, в формировании их природной и локальной очаговости основную роль играют домашние жвачные животные. Зараженность мониезиезом овец составляет 57,0%, крупного рогатого скота – 38,0%, коз – 25,4% и буйволов – 21,6%. Из диких парнокопытных животных *Moniezia expansa*, *M. benedeni* отмечаются у Дагестанского тура, серны, косули, Кавказского оленя и диких кабанов. Эпизоотологическая роль диких парнокопытных животных в условиях Азербайджана незначительна.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: овцы, крупный рогатый скот, косуля, *Moniezia expansa*, *M. benedeni*, эпизоотология, орибатида, клещи, Азербайджан.

G.D. ISMAILOV, G.G. FATALIEV

Institute of zoology of National academy of sciences of Azerbaijan

THE ECOLOGO-GEOGRAPHICAL ANALYSIS OF DISTRIBUTION OF AGENTS OF MONIESIOSIS OF THE WILD AND DOMESTIC ARTIODACTYL ANIMALS OF AZERBAIJAN

Moniezia expansa, *M. benedeni* and *M. autumnalis* is registered in wild and domestic artiodactyles of Azerbaijan. Domestic ruminants play a dominant role in preservation of moniesiosis invasion in the nature, in formation of their natural and local focality. Infection of sheep by moniesiosis makes 57,0%, a horned cattle – 38,0%, goats – 25,4% and buffalo – 21,6%. From wild artiodactyl animals *Moniezia expansa*, *M. benedeni* is registered at the Dagestan tur, a chamois, roe deer, the Caucasian deer and wild boars. An epizootological role of the wild artiodactyl animals in the Azerbaijan conditions is very small.

KEYWORDS: Sheep, large horned livestock, roe, *Moniezia expansa*, *M. benedeni*, epizootic diseases, Oribatei, Azerbaijan.

У домашних и диких парнокопытных животных Азербайджана паразитирует 3 вида мониезии: *Moniezia expansa*, *M. benedeni* и *M. autumnalis*. Зараженность овец *M. expansa* в горных зонах равна 17,9%, *M. benedeni* – 17,7%, в предгорных зонах *M. expansa* – 17,5% (3-8 экз.), *M. benedeni* – 15,4%, в низкогорных зонах *M. expansa* – 14,7%, *M. benedeni* – 16,7%, в равнинных зонах *M. expansa* 10,4%, *M. benedeni* – 11,3%. Молодняк ягнят интенсивно заражается *M. expansa* в начале весны – 28,5% и осенью (18,5%). Зараженность промежуточных хозяев (орибатидных клещей) интенсивно происходит в начале весны и в конце осени (1,8-2,5%).

Нашей целью было изучить эпизоотологическую роль домашних и диких парнокопытных животных в сохранении и в распространении мониезиезной инвазии в природе, а также их роль в формировании природной и локальной очаговости в разных эколого-географических зонах республики.

Мониезиоз широко распространен среди овец, коз, крупного рогатого скота, буйволов во всех животноводческих хозяйствах Азербайджана (у овец 57,0%, коз 25,4%, крупного рогатого скота 38,0%, буйволов 21,6%). Из диких парнокопытных животных *Moniezia expansa*, *M. benedeni* отмечаются у дагестанского тура, серны, косули, кавказского оленя и диких кабанов [1, 2, 4, 5, 6]. Изучение мониезиоза у диких парнокопытных животных имеет большое теоретическое и практическое значение для выявления филогенетических связей и взаимобмена между домашними и дикими представителями этой группы [2].

Материалы и методы. Для изучения эколого-географического распространения мониезиоза жвачных

животных в Азербайджане [4] было исследовано ПГВ по методу академика К.И. Скрябина (1928) 13 021 овца, 314 коз, 3319 голов крупного рогатого скота, 781 буйвол, по копрологическим методам – 440 ягнят (по методу Фюллеборна). А также исследованы европейские косули и джейраны по 3 головы [5, 6], дагестанский тур [1, 3], серна и дикий кабан по 7 голов [6]. Исследованы 20 000 орибатидных клещей по методу Буланова-Захваткина Е.М. (1952). Орибатидных клещей выделяли из почвы аппаратом Тульгрена.

Результаты исследований. В результате проведенных нами исследований выяснилось, что на пастбищах горных и предгорных зон Кавказа в пределах Азербайджана широко распространены промежуточные хозяева мониезиозии. Видовой состав и плотность их популяции в данной зоне высокие. На зимних пастбищах республики (Джейранкечмез, Адждере, Джейранчёл, Гобу, Гаджинохур и др.) орибатидные клещи активны в течение всего пастбищного периода.

На летних и зимних пастбищах Азербайджана нами зарегистрировано 54 вида орибатидных клещей, из них 25 видов являются промежуточными хозяевами мониезии. Из этих видов *Schelorbates latipes*, *Sch. laevigatus*, *Sch. longus*, *Sch. longiporosus*, *Zygoribatula terricola*, *Zyg. frisiae*, *Zyg. cognata*, *Zyg. microporosa*, *Zyg. palid*, *Ceratozetes mediocoris*, *Galumna obvia*, *Opiia expansa* и др. широко распространены на всех пастбищах и имеют высокую восприимчивость к заражению яйцами мониезий.

Заражаемость домашних и диких жвачных животных мониезиозом в Азербайджане происходит круглый год,



так как при их вскрытии в разное время года зарегистрированы имагинальные и преимагинальные цестоды.

Мониторинг возбудителей мониезиоза домашних парнокопытных животных в Азербайджане показал, что при сохранении мониезиозной инвазии в природе и их эпизоотологии основную роль играет мелкий рогатый скот. Заражаемость мониезиозом овец составляет 18,1-19,0%, крупного рогатого скота – 10,1-11,9%, буйволов – 6,1-6,4%. Анализ собранного материала показал, что мониезиоз широко распространен у овец горных и предгорных районов (Шеки 17,5%, Загатала 21,9%, Шемаха 16,9%, Куба 24%, Гедабек 34,4%), Кура-Араксинской низменности (Саатлы 17,2%, Сабирабад 19,3%, Имишли 12,7%, Бейлаган 27,5%), а также пустынных и полупустынных районов (Абшерон 10%, Гобустан 6,7%).

Таблица 1

Степень распространения возбудителей мониезиоза у овец различных экологических зон (по данным ПГВ)

Зоны	Всего исследовано, гол.	Из них заражено, гол.	Интенс. и экстенс. заражения
Низменная	3201	335	10,4 (1-8)
Горная	4885	1156	17,9 (2-14)
Низкогорная	2049	360	17,5 (3-8)
Предгорная	2886	414	14 (2-10)

Как видно из таблицы, в распространении мониезиозной инвазии не наблюдается строгой зональности, чаще встречается у овец в горной и низкогорной зоне. Среди диких парнокопытных животных мониезиоз распространён незначительно.

Таблица 2

Сезонная динамика зараженности взрослых овец мониезиозом (по данным ПГВ)

Сезоны года	Всего исследовано, гол.	M. expansa		M. benedeni	
		Из них заражено, гол.	% зараженности	Из них заражено, гол.	% зараженности
Весна	358	78	21,7	65	18,1
Лето	426	59	13,9	60	14,0
Осень	391	90	23,0	80	20,4
Зима	414	72	17,4	50	11,5

Во влажные сезоны года 70-80% орибатидных клещей мигрируют на поверхность почвы и оттуда на зелёную траву. Как указано в табл. 2, зараженность видом *M. benedeni* у овец весной составляет 18,1%, а осенью – 20,4%, а видом *M. expansa* весной составляет 21,7%, осенью – 23,0%.

Возрастная динамика зараженности ягнят указана в табл. 3. Зараженность ягнят в зависимости от сезона года колеблется. Наиболее высокий процент (28,5%) зараженности у ягнят 4-5-месячного возраста.

Зараженность жвачных животных мониезиозом происходит круглый год, промежуточные хозяева мониезиозии – орибатидные клещи – активны во все сезоны года. Орибатидные клещи мигрируют в глубину почвы только при сильном охлаждении воздуха (-8...-15°C) и при умеренно высокой температуре (+40...+45°C).

Таблица 3

Возрастная динамика зараженности ягнят мониезиозом (по данным копрологии)

Время года (возраст)	Всего исследовано	Из них заражено	% зараженности
Весна (4-5-месячный)	140	40	28,5
Лето (5-7-месячный)	135	15	11,5
Осень (7-9-месячный)	85	16	18,5
Зима (10-12-месячный)	80	8	10

Результаты изучения распространения мониезиозов у парнокопытных животных показали, что в сохранении и распространении мониезиозной инвазии в природе основную роль играют домашние парнокопытные животные. Нельзя отрицать роль диких парнокопытных животных в эпизоотологии мониезиозной инвазии в природе, но это требует особого исследования, так как интенсивность и экстенсивность инвазии у них низкая.

При проведении пастбищной профилактики надо учесть суточные миграции и сезонные динамики орибатидных клещей, которые являются основным источником заражения домашних и диких парнокопытных животных мониезиозом на пастбищах. Инвазионные личинки мониезиозии-церкоцисты способны долгое время сохранять жизнеспособность в брюшной полости тела клещей и в благоприятных условиях они заражают окончательных хозяев.

Список литературы

1. Асадов С.М., Садыхов И.А. *Moniezia expansa* у Дагестанского тура и серны в Азербайджане // Изв. АН Азерб.ССР. Серия «Биологические и медицинские науки», 1961. № 7. С. 47-49.
2. Асадов С.М., Ялиев С.М. К изучению гельминтофауны Кавказского оленя и европейской косули в Закатальском госзаповеднике // Изв. АН Азерб.ССР. Серия «Биологические науки», 1971, № 3. С. 91.
3. Исмаилов Г.Д. Эколого-географический анализ распространения аноплоцефалатов у жвачных животных Азербайджана (фауна, систематика и биология) и их промежуточные хозяева // Изв. АН Азерб.ССР. Серия «Биологические науки», 2009. № 1-2. С. 78-84.
4. Садыхов И.А., Колесниченко М.Л., Фаталиев Г.Г. Влияние некоторых экологических факторов на гельминтофауну джейрана (*Gazella subgutturosa*, Gued.) на острове Булла Каспийского моря // Исследования по гельминтологии в Азербайджане. Баку, 1984.
5. Садыхов И.А., Фаталиев Г.Г. К изучению гельминтофауны европейской косули на Малом Кавказе Азербайджанской ССР // Исследования по гельминтологии в Азербайджане. Баку: Изд. «Элм», 1984. С. 92.
6. Садыхов И.А., Фаталиев Г.Г. Обнаружение *Moniezia expansa* у дикого кабана // Проблемы паразитологии. Киев: Изд-во «Наукова думка», 1975. С. 150-151.

Контактная информация:
e-mail: qarafataliyev@bk.ru



В.Н. БАЙМАТОВ, А.В. МЕТЕЛЁВ, В.Е. РОМАНОВА

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

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕНТГЕНО-КОНТРАСТНОГО И УЛЬТРАЗВУКОВОГО МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ ПОЧЕК И МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У КОШЕК И СОБАК

Использование ультразвуковых и рентгено-контрастных методов значительно расширяет представления о процессах, происходящих в урогенитальной системе кошек и собак, что позволяет достаточно точно диагностировать изменения и патологии. Для рентгено-контрастного исследования урогенитальной системы лучше использовать омнипакм в дозе 240 мг с предварительной подготовкой животного. После внутривенной инъекции подготовки рекомендуется проводить рентгено-контрастную диагностику на 40, 50 и 75 минутах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рентгено-контрастное исследование, ультразвуковое исследование, почки, мочевыделительная система.

V.N. BAJMATOV, A.V. METELEV, V.E. ROMANOVA

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

USE OF RENTGENO-CONTRAST AND ULTRASONIC METHODS IN RESEARCH OF KIDNEYS AND URINOGENITAL SYSTEM AT CATS AND DOGS

Use ultrasonic and X-ray-contrast methods considerably expands representations about the processes occurring in urinogenital system at cats and dogs that allows to diagnose their changes precisely enough. For X-ray-contrast research of urinogenital system it is better to use omnipac in a dose of 240 mg, with preliminary preparation of an animal. After intravenous injection of a preparation it is recommended to spend rentgeno-contrast diagnostics on 40, 50 and 75th minutes of research.

KEYWORDS: rentgeno-contrast research, ultrasonic research, kidneys, urinogenital system.

Актуальность. Рентгено-контрастное и ультразвуковое исследования (УЗИ) широко применяют в качестве дополнительных методов. Очень актуальной в настоящее время является проблема своевременной диагностики различных патологий мочеполовой системы у собак и кошек (такие как мочекаменная болезнь, разрывы и дефекты мочеточников, их атония, цистит и т. д.) [1].

Цель и задачи исследования. Целью исследования было выявить патологические изменения в мочеполовой системе у кошек и собак, применяя рентгено-контрастный метод исследования (с использованием различных доз омнипака) и уточнением их с помощью УЗИ.

Для достижения указанных целей были поставлены следующие задачи: показать патологию органов мочеобразования и мочевыделения у собак и кошек; провести рентгено-контрастное исследование мочеполовой системы с использованием омнипака в различных концентрациях; провести УЗИ почек и мочевого пузыря

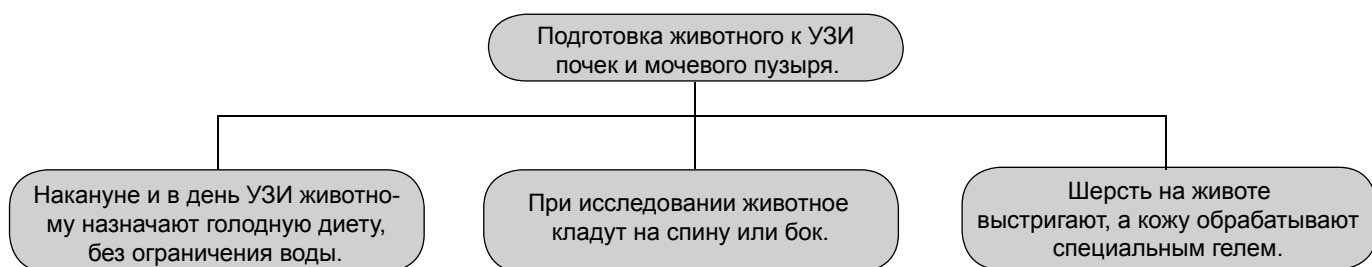
кошкам и собакам, у которых подозревается наличие патологии данных органов.

Материалы и методы. Базой для исследования являлись кафедра патологической физиологии им. В.М. Коропова МГАМВиБ им. К.И. Скрябина, а также московские ветеринарные клиники «Оберег» и «Эсперанс».

Проведены рентгено-контрастные исследования мочеполовой системы на 25 кошках и 25 собаках разного возраста, массы и породы. Также использовали клинические и лабораторные методы. Для внутривенного введения использовали омнипак (йодорганическое неионное контрастное вещество, содержащее в качестве активного компонента йогексол). В первой серии опытов концентрация йогексола на 1 мл препарата составляла 518 мг (эквивалентно 240 мг йода на 1 мл). Вторую серию исследований проводили с концентрацией 300 мг йода на 1 мл препарата (содержание йогексола 647 мг в 1 мл препарата). В обоих исследованиях внутривенно струй-

Схема

Алгоритм подготовки животного к проведению УЗИ



Патологическая физиология

но вводили 20 мл препарата, затем проводили рентгенографию.

Для УЗИ почек и мочевыделительной системы у собак и кошек использовали аппарат DP 6600 с датчиком частотой 7,5 МГц.

УЗИ почек и мочевого пузыря проводили с предварительной подготовкой животного (см. схему).

Результаты. Установлено, что чаще у кошек и собак вовлекаются в патологический процесс почки (нефриты – 40%, нефрозы – 30%, поликистоз – 15%, уролитиаз – 15%). В 10-15% случаев выявляли изменения в мочеточниках (разрывы, закупорка уролитами, воспаления).

На рентгенограммах можно выявлять границы коркового и мозгового слоев, почечной лоханки, мочеточников (рис. 2), мочевого пузыря (рис. 1–6). При воспалении органов мочеполовой системы на рентгенограммах наблюдают нарушение четкости их границ, утолщение и изменение формы слизистой оболочки.

Рентгено-контрастные исследования проводили на 40, 50 и 75 минуте исследований после введения омнипака в разных дозах (рис. 1–6). На рис. 1 видна контрастность почки и мочевого пузыря. На рис. 2 справа и слева от позвоночника видны почки с мочеточниками, а внизу часть мочевого пузыря. На рис. 3 просматривается увеличение контрастности органов мочеподделения. На всех трёх снимках хорошо визуализируются почки и мочевой пузырь, мочеточники – в меньшей степени, т.к. в области прямой кишки находятся каловые массы и газы, экранирующие их.

Следует отметить, что нужно выбирать необходимую проекцию в зависимости от поставленной цели – ход мочеточников (см. рис. 1), почечная лоханка (см. рис. 2), мочевого пузыря (см. рис. 1–3). Лучшие результаты отмечали на 40–50 минутах исследования.

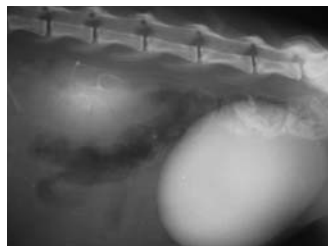


Рис. 1. Правая латеральная проекция кошки (через 40 минут после введения омнипака в дозе 240 мг)



Рис. 2. Вентро-дорсальная проекция кошки (через 50 минут после введения 240 мг омнипака)

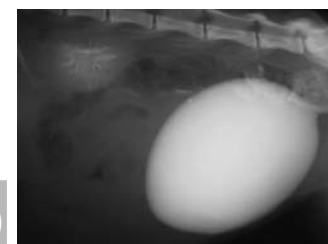


Рис. 3. Правая латеральная проекция кошки (через 75 минут после введения 300 мг омнипака)

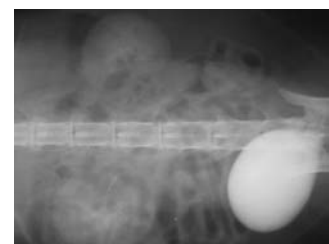


Рис. 4. Дорсо-вентральная проекция кошки (через 40 минут после введения 240 мг омнипака)



Рис. 5. Правая латеральная проекция кошки (через 50 минут после введения омнипака)



Рис. 6. Правая латеральная проекция кошки (через 75 минут после введения 300 мг омнипака)

На рентгенограммах с применением омнипака в дозе 300 мг (рис. 4–6) видны чёткие границы органов. Однако большие дозы приводят к увеличению количества газов, и диагностическая ценность данных рентгенограмм снижена, т.к. происходит экранирование органов мочеполовой системы, в результате чего снижена их визуализация.

При УЗИ почек и мочевого пузыря у кошек и собак можно обнаружить гиперэхогенные частицы, кисты, слизь, новообразования (рис. 7–10).



Рис. 7. Гиперэхогенные частицы в почке у собаки



Рис. 8. Киста почки у кота

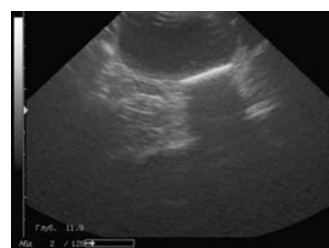


Рис. 9. Мочевой пузырь кота с гиперэхогенным участком (предположительно слизь)

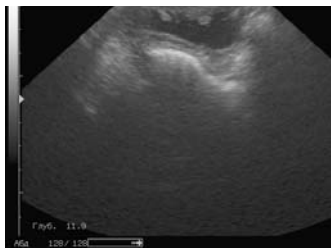


Рис. 10. Мочевой пузырь собаки с новообразованиями

Обсуждение и выводы. Полученные данные показывают, что рентгено-контрастным и ультразвуковым методами исследования можно обнаружить очаговые и диффузные изменения в почках, а также нарушения почечной лоханки и мочевыводящей системы.

Для рентгено-контрастного исследования мочеполовой системы лучше использовать омнипак в дозе 240 мг с предварительной подготовкой животного (24-часовая голодная диета, дача активированного угля за 2-3 дня до исследования). После внутривенного введения препарата рекомендовано проводить рентгенографию на 40, 50 и 75-й минутах исследования.



УЗИ показывает очаговые образования в почках, обычно соответствующие кистам или опухолям. Среди диффузных изменений различают увеличение эхогенности коркового слоя почек, которое бывает при гломерулонефрите, остром некрозе почечных канальцев, нефрокальцинозе и отравлении этиленгликолем. Общее увеличение эхогенности почек со стиранием кортикомедуллярных различий встречается при хронических воспалительных заболеваниях и при терминальной почечной недостаточности. Все конкременты почек и мочевого пузыря, независимо от их рентгено-контрастности или рентгено-прозрачности, создают гиперэхогенные очаги с плотной акустической тенью. Полученные нами данные согласуются с литературными [1, 2, 3].

Список литературы

1. Арсланян Г.Г. Ультразвуковая эхография в диагностике заболеваний мочеполовой системы у мелких домашних животных: Мат. 3-й конф. по учебно-методической, воспитательной и научно-практической работе академии. Ч. 2. М., 2006.
2. Шабанов А.М., Зорина А.И., Ткачев-Кузьмин А.А. и др. Ультразвуковая диагностика внутренних болезней мелких домашних животных. М.: «КолосС», 2005.
3. Michael E., Herrtage M.A. The use of diagnostic ultrasound in small animal practice: 3rd PractiVet Summit, 19-20 february. Moscow, 2010.

Контактная информация:
Романова В.Е. Viksa9@mail.ru

УДК 619:616.61-008.64

В.Е. РОМАНОВА

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

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕМОДИАЛИЗА У СОБАК ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Гемодиализ – метод заменимой терапии при лечении острой и хронической почечной недостаточности у собак. Его цель – завершение или замена потерянных функций почек.

Гемодиализ не может заменить полностью обычно функционирующие почки, но посредством этого метода больные животные, несмотря на хроническую почечную недостаточность, могут двигаться, ходить, поддерживать способность жить.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гемодиализ, почечная недостаточность, почки.

V.E. ROMANOVA

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

APPLICATION OF THE HEMODIALYSIS FOR DOGS AT TREATMENT OF NEPHRITIC INSUFFICIENCY

The hemodialysis is method of replaceable therapy at treatment of nephritic insufficiency at dogs in sharp and in the chronic period. Its purpose is completion or replacement of the lost functions of kidneys.

The hemodialysis cannot replace completely normally functioning kidneys, but by means of this method sick animals can, despite chronic nephritic insufficiency, move, walk, to support ability to live.

KEYWORDS: the hemodialysis, nephritic insufficiency, kidney.

Актуальность. Гемодиализ (haemodialysis; греч. «haima» – кровь + «dialysis» – разложение, отделение) – метод внепочечного очищения крови от веществ с малой и средней молекулярной массой путем диффузии и частично конвекции (ультрафильтрации) через искусственную полупроницаемую мембрану. Показан при острой и хронической почечной недостаточности, отравлениях диализируемыми ядами, многих лекарственных интоксикациях, а также в случаях тяжелых нарушений электролитного состава крови [2].

Данная процедура выполняется с помощью аппарата «искусственная почка». Во время гемодиализа кровь животного проходит через специальный фильтр (диализатор), который удаляет из нее накопившиеся токсические продукты обмена веществ, избыток жидкости и соли, нормализуя таким образом нарушения водного и электролитного балансов.

Гемодиализ назначается в случае **острой и хронической почечной недостаточности** у собак массой более 10 кг. Проведение данной процедуры у собак весом менее

10 кг, а также у кошек, описано в иностранной литературе (Dr. Gilad Segev, Israel), однако в отечественных источниках литературы таких данных нет.

Помимо заместительной терапии при почечной недостаточности данный метод также эффективно применяют при **интоксикациях, застойных явлениях в случае сердечной недостаточности у собак** [1].

Трудности и осложнения гемодиализа: требуется крупный кровеносный сосуд с большим потоком крови, понижение давления, судороги, рвота из-за забора больших порций крови, непереносимость диализирующих растворов и отравления при длительном применении плохо очищенной воды, аллергии на компоненты аппарата, повреждение эритроцитов перфузионными насосами, дорогостоящее оборудование и расходные материалы.

Противопоказаниями для проведения гемодиализа являются некорректируемая артериальная гипотензия, продолжающееся кровотечение, геморрагический инсульт, гемофилия, наличие сопутствующих заболеваний (которые могут обостриться на фоне проведения гемо-

Патологическая физиология

диализа), пожилой возраст, а также сильный неуравновешенный тип высшей нервной деятельности с преобладанием процессов возбуждения [1, 2, 3].

Цель и задачи. Целью исследования явилась оценка эффективности использования гемодиализа как метода заместительной терапии при лечении хронической почечной недостаточности у собаки. Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи: собрать анамнез, провести клинический осмотр животного, ультразвуковое исследование почек и мочевого пузыря, клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови до и после проведения процедуры гемодиализа.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе московской ветеринарной клиники «ВетОК», а также на кафедре патологической физиологии им. В.М. Коропова МГАВМиБ им. К.И. Скрябина. Для осуществления гемодиализа применяли аппарат фирмы «Фрезениус» (рис. 1).



Рис. 1. Аппарат для проведения гемодиализа

Аппарат «искусственная почка» состоит из диализатора, устройства для приготовления и подачи в диализатор диализирующего раствора, перфузионного устройства, обеспечивающего продвижение крови через диализатор, и монитора. Диализатор – основная часть аппарата. Важнейшим функциональным элементом его является полупроницаемая диализная мембрана, которая разделяет внутреннее пространство диализатора на две части (для крови и раствора), каждая из которых имеет свой вход и выход.

Аппарат присоединяли к пациенту с помощью специального катетера, вводимого в яремную вену. Для предупреждения свертывания крови в аппарате в линию перед фильтром вводили гепарин (фракционно).

Эффективность гемодиализа оценивали, прежде всего, клинически по обратному развитию симптомов уремической интоксикации, по изменению массы тела, а также биохимическим показателям (содержание в крови мочевины, креатинина, калия и фосфора).

Клинический анализ крови проводили на анализаторе «Granis 3», биохимический анализ крови – на анализаторе «Hitachi 917», клинический анализ мочи – на анализаторе «CL-50», ультразвуковое исследование – на аппарате «DP-6600».

Результаты исследования. Собака Дуглас, чау-чау, 6 лет, кобель.

Анамнез: животное содержится в квартире, вакцинировано, кормление едой домашнего приготовления. Жалобы на рвоту с желчью, угнетение, отсутствие аппетита, полиурию и полидипсию.

Клинический осмотр: состояние средней тяжести, животное угнетено, температура 38,8°C. Положение тела естественное, упитанность ниже средней, тургор кожи незначительно снижен, тактильная чувствительность сохранена. Видимые слизистые оболочки бледно-розовые, при пальпации брюшная стенка напряжена, болезненна. Прогноз неблагоприятный.

Клинический анализ крови: лейкоциты – $4,75 \times 10^9/\text{л}$, эритроциты – $5,4 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин – 112 г/л.

Лейкограмма: базофилы – 0, эозинофилы – 5, юные нейтрофилы – 0, палочкоядерные нейтрофилы – 2, сегментоядерные нейтрофилы – 79, лимфоциты – 14, моноциты – 0.

Клинический анализ мочи: цвет желтый, прозрачная, плотность 1,005.

Исследование осадка мочи: плоский эпителий – до 7-10 в п/з, переходный эпителий – 0-1 в п/з, почечный эпителий – 3 в п/з, эритроциты – до 5 в п/з, лейкоциты – 15-20 в п/з, цилиндры зернистые единично, бактерии значительно.

Биохимический анализ крови: креатинин – 1717 мкмоль/л, мочевины – 55,7 ммоль/л, общий билирубин – 3,0 мкмоль/л, прямой билирубин – 1,0 мкмоль/л, общий белок – 81,4 г/л, глюкоза – 4,07 ммоль/л, амилаза – 2703 Е/л, щелочная фосфатаза – 99,0 Е/л, калий – 4,40 ммоль/л, фосфор – 4,69 ммоль/л.

Владельцы предоставили несколько результатов биохимического исследования крови, проведенного в динамике, на которых отмечается значительный рост креатинина и мочевины.

Ультразвуковое исследование:

1. Мочевой пузырь. Стенки ровные, толщина стенки 3,9 мм. Умеренно наполнен. Взвеси отсутствуют.

2. Правая почка. 65 × 40,4 мм. Контур нечеткий. Эхоструктура паренхимы однородная, эхогенность повышена. Лоханка расширена до 4,1 мм.

3. Левая почка. 67 × 35,4 мм. Контур нечеткий. Эхоструктура паренхимы однородная, эхогенность повышена. Лоханка расширена до 4,0 мм. Граница между корковым и мозговым слоями сглажена.

Диагноз: хроническая почечная недостаточность.

Лечение: переливание крови и проведение гемодиализа (рис. 2).



Рис. 2. Проведение гемодиализа собаке, больной хронической почечной недостаточностью



Биохимический анализ крови после проведения гемодиализа: креатинин – 81,2 мкмоль/л, мочевины – 1,2 ммоль/л, калий – 4,58 ммоль/л, фосфор – 0,7 ммоль/л.

Было проведено 3 сеанса гемодиализа с интервалом в 1 день, однако через неделю после этого снова наблюдалось значительное увеличение концентрации креатинина и мочевины в крови (1252 мкмоль/л и 50,5 ммоль/л соответственно). Общее состояние животного лишь на несколько дней улучшалось, но затем вновь становилось тяжелым. Собака теряла массу тела. Ввиду того, что прогноз неблагоприятный и лечение дорогостоящее, владельцы подвергли животное эвтаназии.

Вывод

Гемодиализ не может полностью заменить нормально функционирующие почки, но с помощью этого метода больные животные могут, несмотря на хроническую почечную недостаточность, двигаться, гулять, поддерживать жизнедеятельность.

При острой почечной недостаточности существует большая вероятность того, что почки смогут восстановить свое функционирование. Однако при хронической почечной недостаточности такой возможности, к сожалению, нет, и гемодиализ таким больным проводить нецелесообразно в связи с инвазивностью и дороговизной данного метода.

Список литературы

1. Любарская О.А., Любарская А.Б. Почечная недостаточность у кошек и собак. Владивосток: ИПК «Дальпресс», 2006.
2. Чупрасов В.Б. Программный гемодиализ. СПб: Фолиант, 2001.
3. Tadahisa Mashita, Jun Yasuda. Short-term hemodialysis treatment in dogs and cats with total uretic obstruction // Japan journal of veterinary research. Vol.45. №2, 1997.

Контактная информация:
Viksa9@mail.ru

Птицеводство

УДК 619:616.995.7:636.5

Э.С. МАИЛЯН

ООО «ТехКорм», г. Москва

ХРУЦАК – СКРЫТАЯ УГРОЗА В ПТИЦЕВОДСТВЕ

Зачастую, тщательно соблюдая схему подготовки птицеводческих помещений и профилактических мероприятий на поголовье, мы продолжаем констатировать факт персистирующих проблем как вирусного, так и бактериального характера, не понимая, почему это происходит. И не всегда очевидно, что угроза скрыта внутри самого птичника!

К сожалению, мы не часто уделяем должное внимание и, как правило, недооцениваем ту реальную угрозу, которую несут в себе синантропные организмы. Безусловно, сегодня увидеть дикую птицу внутри современного птичника практически невозможно. Однако наибольшую опасность представляют намного более мелкие существа – грызуны и особенно насекомые.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хруцак мучной, *Alphitobius diaperinus*, *Tenebrionidae*, птичники, ловушки.

E.S. MAILYAN

SLL «TechKorm», Moscow

MEALWORM – THE LATENT THREAT IN POULTRY FARMING

Frequently, carefully observing the scheme of preparation of poultry-farming premises and preventive actions on a live-stock, we continue to establish the fact of persisting problems both virus, and bacterial character, not understanding why it occurs. And it is not always obvious, that threat is hidden in the hen house!

Unfortunately, we not often pay due attention and, as a rule, we underestimate that real threat which bear in itself synanthropic organisms. Certainly, today to see a wild bird in modern hen house it is practically impossible. However the greatest danger is represented by much smaller beings – rodents and especially insects.

KEYWORDS: mealworm, *Alphitobius diaperinus*, *Tenebrionidae*, hen houses, traps.

При посещении большого числа птицеводческих предприятий мы неоднократно обращали внимание на присутствие в подстилке птичников многочисленных скоплений мелких жучков и их личинок.

Определение видового состава обнаруженных нами жуков показало, что они относятся к жукам-чернотелкам – одному из крупнейших семейств жесткокрылых насекомых, насчитывающему до 20000 видов.

Биология и морфология

Биология чернотелок изучена достаточно хорошо. Жуки-чернотелки – космополиты. Многие виды этих из-

начально тропических африканских насекомых приспособились к обитанию в экстремальных условиях открытых пространств и синантропному образу жизни.

Они практически всеядны, являются серьезными вредителями сельскохозяйственных продуктов, некоторые виды ведут хищный образ жизни, уничтожая других насекомых и даже себе подобных.

Вид, наиболее часто паразитирующий в птицеводческих помещениях, – это мучной хруцак бурый (*Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797), класс *Insecta* (насекомые), отряд *Coleoptera* (жесткокрылые), семейство *Tenebrionidae*

Птицеводство

(чернотелки). Синонимы: малый мучной червь, подстилочный жук, черный жук.

Это продолговато-овальный жук, длиной 5,5-6,5 мм. Тело голое, черного или бурого цвета.



Фото 1а. Мучной хрущак, самец

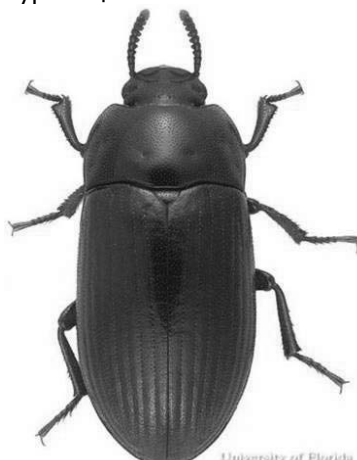


Фото 1б. Самка



Фото 1в. Личинка (мучной червь)

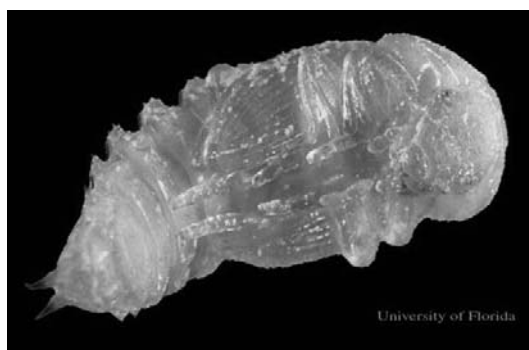


Фото 1г. Куколка

Хрущак широко распространен на мельницах, кондитерских фабриках, в элеваторах, комбикормовых заводах и складах, где поедает зерно, муку, хлебные изделия. Обнаруживается при хранении пшеницы, ячменя, риса, овса, сои, арахиса, льна, хлопка, табака и продуктов их переработки.

По причине своего изначально тропического происхождения предпочитает субстрат с повышенной температурой и влажностью, поэтому паразитирует в птич-

никах и свинарниках, помехохранилищах, где поедает комбикорм, помет, различных насекомых, павшую птицу и битое яйцо.

В природе огромные популяции этих жуков обнаруживаются в гнездовьях диких птиц, пещерных колониях летучих мышей, норах грызунов и местах обитания других позвоночных, где личинки хрущака активно питаются гуано летучих мышей, колониями плесневых грибов, большими и мертвыми летучими мышами, птенцами, голубями, даже пером и любым другим органическим субстратом. Склонны к каннибализму.

В мире зарегистрировано 11 видов хрущака *Alphitobius spp.*, паразитирующих в птичниках.

Наиболее массовые скопления жука и его личинок обнаруживаются в помещениях с напольным содержанием птицы, особенно в подстилке под кормушками и поилками, – в возрасте от 30 дней и до убоя птицы.



Фото 2а. Влажная подстилка – идеальная среда для роста личинок хрущака (Маилян Э.С., 2008)



Фото 2б. «Живая» подстилка из жуков и их личинок (Маилян Э.С., 2008)



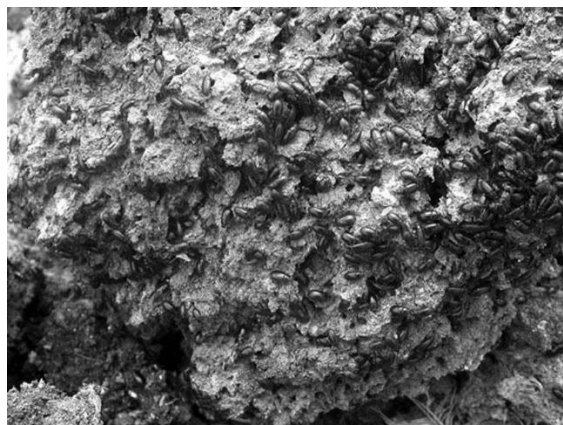


Фото 2 в, г. Огромные популяции хрущака на пометных кучах (James C. Dunford, Phillip E. Kaufman, 2009)

Жизненный цикл и морфология

Мучной хрущак – насекомое с полным превращением. Цикл развития от яйцекладки до имаго длится от 35 до 97 дней в зависимости от температуры, влажности и кормовой базы. Оптимальные условия для развития паразита: 30-33°C при 90%-ной относительной влажности. Насекомое погибает на любой стадии развития при температуре ниже 0°C. Плохо переносит температуры выше 33°C.

Яйцекладка взрослой самки непрерывна в течение всей ее жизни (3-12 месяцев). Она откладывает в среднем до 4 яиц в сутки в трещины в полу и стенах, подстилку и помет, преимущественно под линиями кормления и поения. Потенциально она способна отложить до 2000 яиц за жизнь.

Яйца овальные, 1,5 мм в длину, от кремово-белого до желтовато-коричневого цвета с узкими немного закругленными концами, лежат единично или группами по 12 штук. Через 4-7 дней из них появляются личинки («мучные черви»), живущие в подстилке.

Личинки молочно-белого цвета, длиной 7-11 мм, с сегментированным телом и тремя парами ног. Личинка линяет до 11 раз перед тем как найти укромное место для формирования куколки. В процессе линьки она постепенно темнеет до желтовато-коричневого цвета. Для окукливания она ищет укрытие: закапывается в земляной пол птичника, трещины в бетоне, копает ходы в стенном утеплителе.

Куколка – белая, неподвижная. Стадия длится 7-11 дней. После выхода из куколки жук продолжает копать тоннели в поисках пищи. Половое созревание длится 10-11 дней.



Фото 3. Цикл развития мучного хрущака *Alphitobius diaperinus*. Размер шкалы = 1 мм (Т. Lambkin, QDPI&F, 2006)

И личинки, и жуки – преимущественно ночные насекомые с пиком активности в темное время суток. Они крайне подвижны и быстро закапываются в подстилку при опасности. Взрослые насекомые живут около года, в экспериментальных условиях – более двух лет. Взрослые жуки могут летать.

Численность жука в птичниках может достигать невероятных количеств. Так, в экспериментах за 30 минут после обработки подстилки было собрано 25 кг хрущака, численность которого составила 1 915 663 особи.

Возможные пути применения хрущака

Плотоядные повадки хрущака используются в очистке скелетов животных для музейных экспозиций – по аналогии с жуками-кожеедами рода *Dermestes*. Не случайно мучного хрущака иногда называют «родственником» священного египетского скарабея *Scarabaeus sacer*.

Поселяясь в биотопах куриного клеща *Dermanyssus gallinae* (*Gamasoidea*, *Parasitiformes*), хрущаки уничтожают яйца, нимф и взрослых клещей, чем ограничивают массовое размножение в птичниках этого паразита. Один жук в течение суток способен уничтожить в лабораторных опытах до 10 клещей. Это свойство жука пытались использовать в птицеводстве в качестве биологического метода борьбы с паразитическими клещами.

Исследования показали, что хрущак играет отрицательную роль в контроле популяций домашней мухи (*Musca domestica* L.) хищными жуками-карапузиками (*Carcinops pumilio*), которые обитают в птичниках клеточного содержания несушки. Личинки хрущака поедают яйца и личинок карапузиков, не давая им контролировать популяцию домашней мухи.

Но присутствие хрущака в клеточных батареях не лишено и положительного эффекта – при высокой активности они способствуют хорошей аэрации и подсушке помета и могут стать факультативными врагами личинок мух.

Тем не менее, дальнейшее изучение насекомого выявило целый ряд негативных факторов, которые внесли его в ряд крайне нежелательных биологических объектов на любом предприятии.

Биологическая угроза

Вред от присутствия хрущака в птичнике сложно оценить в абсолютных цифрах, тем не менее, можно с уверенностью говорить о том, что он разнонаправлен и весьма ощутим.

М.Р. Nolan и D.C. Sheppard (США, Джорджия) подсчитали, что среди насекомых-вредителей жуки-чернотелки наносят бройлерному птицеводству наибольший ущерб. Так, в 1996 г. затраты на борьбу с вредителем составили \$1 371 000, в то время как урон от их деятельности обошелся примерно в \$8 476 000.

Установлено, что хрущаки являются векторами и резервуарами таких опасных птичьих патогенов, как: вирус лейкоза птиц, болезни Ньюкасла, болезни Гамборо, РЕО-и энтеровируса, коронавируса индеек, вирусов оспы и гриппа птиц. Они могут выступать в роли промежуточных хозяев кишечных нематод, цестод, скребней и простейших (*Coccidia spp.*). Кроме того, они могут переносить таких возбудителей, как *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus ssp.*, споры плесневых грибов (*Aspergillus* и др.). Зарегистрированы случаи передачи *Campylobacter spp.*

Птицеводство

Было экспериментально доказано, что у здоровой птицы, помещенной на подстилку с жуками, предварительно отобранными с птицефабрик, неблагополучных по лейкозу и болезни Марека, возникали признаки данных заболеваний.

Личинки хруща могут также повреждать оперение и кожу цыплят, снижая качество и категориальность тушек на убой.

Будучи резервуарами разнообразной микрофлоры, хрущаки представляют реальную угрозу и для здоровья человека.

Кроме того, все жуки-чернотелки, включая мучного хрущака, с целью защиты от естественных врагов продуцируют высокоактивные химические вещества – хиноны. Это мощнейшие аллергены, относящиеся к группе вредных и/или опасных для человека производственных факторов. При длительном контакте человека с ними возможны: астма, головная боль, дерматит, аллергическая ангиодема, ринит, эритема, появление папул на коже и слизистых. Пары хинонов могут вызывать конъюнктивит и изъязвление роговицы. Поэтому для людей, работающих в птичниках с массовым присутствием в подстилке жуков и их личинок, а также изучающих этих насекомых в лабораторных условиях, рекомендуется использовать средства индивидуальной защиты кожных покровов и органов дыхания.

Хиноны известны как канцерогены, что еще раз подчеркивает потенциальную опасность хрущаков в отношении безопасности продуктов птицеводства для человека.

Все это заставило исследователей отказаться от идеи использования хрущака в качестве биологического метода борьбы с куриным клещом и другими насекомыми-вредителями.

Другие формы угрозы

Кроме биологической угрозы хрущак наносит и существенный механический вред помещениям: это и повреждение личинками земляных полов (где они есть), и разрушение изоляции, утеплителя и даже деревянных конструкций в помещениях.

В условиях теплых стран, где стены зачастую не утеплены, а пол в птичнике формирует утрамбованная земля, личинки хрущака роют многочисленные ходы-туннели, в которых при механической чистке остается много подстилочного материала и помета, что многократно снижает качество чистки и дезинфекции птичника в период подготовки.

В поисках укромных мест для окукливания они проедают многокилометровые ходы в изоляционных материалах стен птичников. В результате ощутимо повышаются затраты на обогрев помещений.

Согласно проведенным исследованиям, затраты на обогрев помещения, пораженного хрущакком, на 67% выше, чем на обогрев аналогичного, но свободного от этого насекомого птичника (Geden and Hogsette, 1994).

Но отрицательное воздействие паразита на этом не заканчивается. Насекомые и их личинки активно поедают россыпи корма на подстилке, лишая птицу этой возможности. Это влечет повышение кормозатрат.

Охотное склевывание самой птицей огромного количества насекомых из подстилки снижает питательность ее рациона, в свою очередь ухудшая показатели откор-

ма. Кроме того, к концу откорма это нередко приводит к повреждению и даже закупорке кишечника по причине отсутствия у птицы фермента хитиназы, позволяющего переваривать твердые хитиновые покровы тела жуков и личинок.

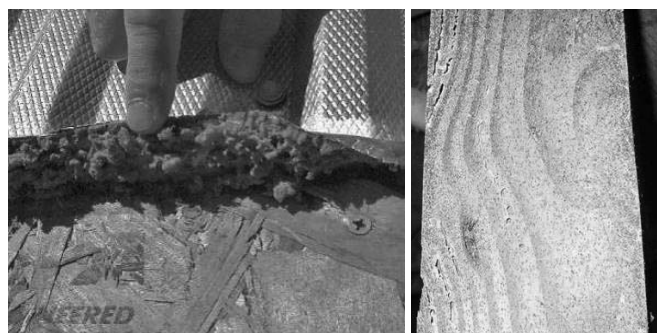


Фото 4 а, б, в. Повреждение утеплителя в птичнике ведет к повышенным теплотратам



Фото 5. Гибель птицы в результате закупорки при поедании большого количества хрущака и личинок

При массовом распространении в птичнике насекомые могут мигрировать наружу в радиусе до 1 км в поисках пищи и укрытия, поэтому зачастую могут нападать на близлежащие бытовые и хозяйственные помещения, нанося им серьезный ущерб.



Поэтому очень важно проводить мониторинг миграции жуков, не допуская их распространения по окрестностям.

Мониторинг

Разработаны различные методы мониторинга присутствия хрущака в птичниках. За ростом популяции жуков и личинок в лабораторных условиях можно следить с помощью специальных устройств, например воронки Берселя (рис. 1), или в птичнике – с помощью простой ловушки, изготовленной из ПВХ трубы (рис. 2).

Можно подсчитывать количество личинок на стенах в вечернее время, а также закрепить на стене контрольный кусок утеплителя и отслеживать количество появляющихся на нем ходов.

Конструкция ловушки проста: внутри 2-дюймовой ПВХ трубы длиной 25-30 см свернут гофрированный лист картона. При помещении на подстилку, паразиты прячась пробираются внутрь. Еженедельное извлечение картона и подсчет особей поможет понять динамику их распространения. Для достоверности мониторинга необходимо 3-6 подобных ловушек, равномерно составленных по птичнику, утопленных в подстилку. Резкое увеличение числа особей указывает на необходимость применения химических инсектицидов.

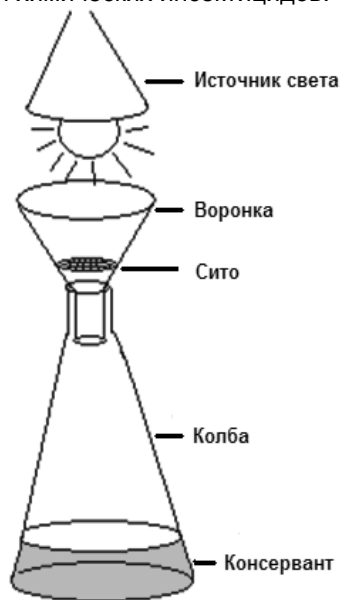


Рис. 1. Воронка Берселя

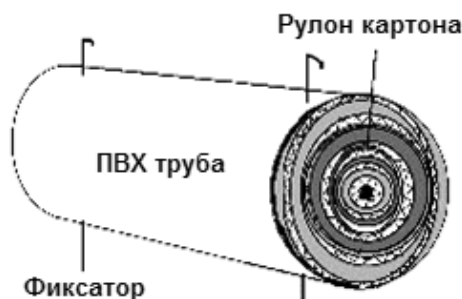


Рис. 2. ПВХ-ловушка

Контроль, профилактика и методы борьбы

В складских, производственных и птицеводческих помещениях необходима систематическая борьба с хрущаком.

До сих пор нет гарантированных методов контроля хрущака, поэтому никогда нельзя быть уверенным в том, что, победив раз, вы навсегда избавились от этого паразита. Так например, в последние годы птицеводческая отрасль Европы, Австралии и США столкнулась с тем, что регулярное использование инсектицидов уже не помогает избавиться от популяций насекомых по причине выработки у них устойчивости к большинству используемых химикатов.

Сейчас группа из нескольких научно-исследовательских и химических компаний проводит ряд экологических и биохимических исследований для выработки новой концепции борьбы с хрущаком, которая будет в скором времени внедрена в производство.

Важно помнить, что для наиболее полной защиты от насекомого необходим комплексный подход, включающий механические (технологические), доступные биологические и химические методы борьбы.

Механический контроль

- В условиях северных регионов и в холодный период года основным фактором контроля паразита может быть низкая температура. Как известно, холод (ниже 0°C) убивает хрущака и его личинки в течение 7 и более дней. Безусловно, «промораживать» птичник можно только в период подготовки и при условии, что водоснабжение и другое оборудование, которое может пострадать от холода, будет отключено или убрано из помещения.

- Периодическое удаление и обновление старой подстилки с предварительной обработкой инсектицидами для предупреждения миграции паразита в близлежащие жилые и производственные помещения.

- Более частое удаление помета из клеточного оборудования.

- При строительстве и реконструкции птичников целесообразно применять определенные виды утеплителя, более устойчивые к повреждениям от личинок хруща. Кроме того, необходимо устанавливать механические препятствия на пути насекомых к незащищенным конструкциям птичников.

- Более эффективный контроль качества подстилки, для чего необходимо помнить несколько важных моментов:

- вода – фактор первой необходимости для развития личинок хрущака: проверяйте линии водоснабжения на предмет протечек – сухая подстилка сдерживает рост популяции жука;

- кормосклад, бункеры с кормами, россыпи кормов снаружи птичника могут стать отправной точкой для активного внедрения и размножения паразита внутри птичника;

- тщательно следить за качеством подстилки (воршение, просушка, замена) под линиями поения и кормления, не давая ей стать привлекательной для насекомого;

- в холодную погоду вытаскивать отработанную подстилку наружу для «обеззараживания» холодом;

- удалять подстилку как можно быстрее после убоя птицы, чтобы насекомые не успели укрыться в стенах;

- если помет вывезен из птичника без обработки, то нужно как можно скорее закопать его в почву подальше от других производственных объектов и населенных пунктов;

- ворошить помёт в компостных ямах раз в 2 недели, укрывая их черными полиэтиленовыми листами; температура и газ, образующиеся при перегнивании помёта эффективно справятся с насекомыми на всех стадиях развития.

Биологический контроль

В природе у хрущака существует несколько естественных врагов – муравьи, простейшие, нематоды и энтомопатогенные грибки, однако гарантированно эффективных мер биологической борьбы с данным насекомым пока нет. Большие надежды подает грибковый патоген *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. В экспериментах он активно подавляет рост и развитие как взрослой, так и личиночной формы паразита.



Фото 6. Взрослый хрущак *Alphitobius diaperinus* (A) и его личинка (B), зараженные *Beauveria bassiana*

Действие *B. bassiana* на насекомое начинается с проникновения споры в полость тела через кожные покровы (кутикулу). Попав в тело, спора прорастает в гифу, затем разрастается мицелий, от которого отчленяются конидии. Оказавшись в теле, конидии циркулируют в гемолимфе. Уже на этой стадии возможно поражение насекомого вследствие выделения некоторыми штаммами значительного количества токсинов. В отсутствие токсинов мицелий постепенно заполняет все тело насекомого,

прежде всего поражается мышечная ткань. Рост гриба продолжается до тех пор, пока все ткани не будут разрушены. Могут образовываться конидиеносцы, прорывающие кутикулу и обволакивающие мертвую личинку. Пораженное насекомое покрывается белым ватым налетом (конидиеносцы). В дальнейшем наблюдается созревание спор и происходит массовое спороношение.

Ведется экспериментальная работа по оценке эффективности применения простейших, а также энтомопатогенных нематод – потенциальных врагов хрущака. К числу перспективных нематод относятся представители семейств *Steinernematids* и *Heterorhabditids*.

В Бразилии были обнаружены два вида пауков, активно уничтожающих взрослых особей хрущака. Было высказано предположение о возможности использования этих видов для контроля популяций насекомого в птичниках наряду с другими методами биологического контроля. Работа в этом направлении продолжается.

Химический контроль

Для обработки помещений, где основательно поселился хрущак, рекомендуется применение химических дезинсектантов.

Для пустых помещений применяют влажную дезинсекцию средствами: КЗМВ, полихлорпинен, тиофос, хлорофос, трихлорметафос-3, ДДВФ и другие; для аэрозольной (при помощи генераторов) – технический гексахлоран в зелёном, дизельном или соляровом масле, инсектицидные шашки; для газовой – хлорпикрин, дихлорэтан и бромистый метил (цианплав и дискоидные циклоны синильной кислоты используют для обработки мельничных, крупяных и комбикормовых предприятий). Продовольственное, фуражное зерно и семенной горох газируют хлорпикрином и бромистым метилом.

При обработке птичников важны не только средства, но сроки и порядок обработки помещений. Так, первичную обработку необходимо проводить либо накануне вывоза птицы на убой, либо незамедлительно после освобождения помещения.

Обработку необходимо начинать со стен, сверху вниз, таким образом отрезая насекомым возможность вернуться в свои стенные ходы в утеплителе. Опоздание с обработкой приводит к тому, что с посадкой новой партии птицы история повторяется, а значит, инсектицид был израсходован зря.

Любая задержка с обработкой подстилки в холодную погоду резко снижает ее эффективность. Поэтому в таких случаях целесообразно проводить дополнительную обработку пола и подстилки за 1-2 дня до посадки новой партии птицы. В птичниках с брудерным обогревом можно сэкономить на инсектициде, если обрабатывать только брудерную зону. Насекомые стремятся именно туда.

Птичники со взрослой птицей (от 8 недель) можно обрабатывать в присутствии птицы, хотя эффективность такой обработки минимальна и непродолжительна.

Среди основных групп инсектицидов выделяют: фосфорорганические соединения, карбаматы, пиретроиды и бораты.

Разработано несколько препаратов на основе карбарила в форме порошка, дуста, раствора для спрея и приманок. В США для обработки почвы и помещений используют борную кислоту.



В лабораторных условиях гашеная известь (гидроксид кальция) эффективно убивает взрослую и личиночную стадию насекомого. Однако любые средства малозффективны в присутствии большого количества органического материала (помет, подстилка, пыль) и когда паразиты находятся в своих укрытиях.

Инсектицидная активность существующих сегодня препаратов ограничена периодом в 5-7 дней, поэтому очень важна ранняя обработка подстилки и помещения после ее удаления. Более того, ни один из них не работает дольше, чем в течение двух оборотов. Поэтому необходима ротация препаратов: например, карбаматы можно чередовать с фосфатами, а затем пиретроидами. Это поможет избежать быстрой выработки резистентности и у хрущака, и у мух.

В период подготовки птичников нельзя смешивать инсектициды и дезинфектанты, большинство их несовместимы и нейтрализуют действие друг друга. Рекомендованный интервал – 10-14 дней.

Необходимо помнить, что активность инсектицидов может снижаться под воздействием солнечного света, дождя, высокой температуры.

Устойчивость к инсектицидам

Она быстро развивается у насекомых, находящих в постоянном контакте с препаратом. На это уходит около двух лет. Устойчивость вырабатывается на генетическом уровне, причем тем быстрее, чем выше дозы препарата или чаще контакт с ним. Насекомые, устойчивые к какому-то инсектициду, могут быть перекрестно-устойчивы к другому препарату того же класса или схожего механизма действия. Поэтому прерывистая схема применения препаратов позволяет удлинить срок их эффективности. Непрерывное их использование быстро расходует «ресурс чувствительности» насекомых, особенно если у него короткий цикл воспроизводства.

Единственно эффективный метод избежать выработки у насекомого резистентности – это ротация инсектицидов разных классов.

Нельзя ждать пока паразиты размножатся до неимоверных количеств. Необходимо начинать борьбу как только появятся первые признаки их присутствия.

Вывод

Мучной хрущак *Alphitobius diaperinus* распространен в птицеводческих хозяйствах всего мира и является потенциальным источником заболевания птицы различными вирусными, бактериальными, паразитарными и грибковыми заболеваниями.

Огромные популяции этих насекомых, присутствующих почти на любой фабрике, являются важнейшим фактором биологической угрозы как в отношении непосредственно птицы, так и в плане производства безопасных для человека пищевых продуктов.

Для эффективной борьбы с паразитом необходим систематический мониторинг его численности и своевременное применение технологических и химических методов профилактики и борьбы с учетом выбора наиболее действенных инсектицидов и их регулярной ротации.

Список литературы

1. Гафуров А.К. Роль жуков-чернотелок в жизненных циклах цестод, скребней, нематод. Вопросы экологии и морфологии

гельминтов человека, животных и растений: Тр. гельминтол. лабор., 1969. Т 20. С. 46-54.

2. Прудникова М.А. О невозможности применения жука-чернотелки *Alphitobius diaperinus* как агента биологического метода борьбы с куриным клещом *Dermapyssus gallinae* // Энтомологическое обозрение, LXX, 1, 1991. С. 53-56.

3. Сваджян П.К. и др. Жесткокрылые – промежуточные хозяева гельминтов, имеющих медицинское и ветеринарное значение: Тр. Самаркандского унив., 1964. Т. 147. С. 5-73.

4. Adams Jesse. Vector Abatement Plan – Darkling Beetles. CAMM Poultry, 2003. Chapter 10.

5. Axtell R.C. Arthropods pests of poultry. In: Livestock Entomology. Chapter 16, 1985. P. 269-295.

6. Celibeo, Dawn Renee. Abstract. Role and Mitigation of Two Vectors of Turkey Coronavirus, *Musca domestica* L. and *Alphitobius diaperinus* Panzer., 2002.

7. Chernaki-Leffer A.M., Sosa-Gómez D.R.I., Almeida L.M. Selection for entomopathogenic fungi and LD50 of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. for the Lesser Mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Rev. Bras. Cienc. Avic. V. 9. N. 3. Campinas jul./sep., 2007.

8. Geden C.J., Arends J.J., Rutz D.A., Steinkraus D.C. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), in poultry litter, soil, and a pupal trap // Biological Control, 1998. 13:71-77.

9. Goodwin M.A. & Waltman W.D. Transmission of *Eimeria*, viruses, and bacteria to chicks: darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens // J. of Applied Poultry Research 5(1), 1996. P. 51-55.

10. James J. Arends. External parasites and poultry pests. Diseases of Poultry. 11th Edition. Chapter 27. P. 913.

11. James C. Dunford and Phillip E. Kaufman. Lesser Mealworm, Litter Beetle, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae).

12. Rebecca Baldwin and Thomas R. Fasulo, Entomology and Nematology Department, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Confused Flour Beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae) and Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). Publication #EENY-289, 2008.

13. Skewes P.A. & Munroe J.L. Research note: The effects of darkling beetles on broiler performance. Poultry Science. 70, 1991. P. 1034-1036.

14. Trevor Lambkin. Australian Poultry CRC Fact Sheet: Darkling Beetles, 2006.

Контактная информация:

Маилан Э.С.

Edward.Mailyan@nutreco.com



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

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ЛИГНОГУМАТ КАЛИЕВЫЙ КД» НА РАЗВИТИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЦЫПЛЯТ КРОССА ХАЙСЕКС КОРИЧНЕВЫЙ

Препарат «Лигногумат калиевый КД» хорошо влияет на развитие иммунной системы цыплят. Это можно увидеть, подвергнув разностороннему исследованию кровь, как наиболее чувствительный источник информации о состоянии организма птицы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иммунная система, цыплята, лигногумат калиевый КД, сыворотка крови.

N.M. MALOVA, B.P. BESSARABOV

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

PREPARATION INFLUENCE «LIGNOGUMAT KALIEVYI KD» ON DEVELOPMENT OF IMMUNE SYSTEM OF CHICKENS OF CROSS-COUNTRY HISEX THE BROWN

The preparation «Lignogumat kalievyy KD» well influences development of immune system of chickens. It can be seen, having subjected to versatile research blood, as the most sensitive source of the information on a condition of an organism of a bird.

KEYWORDS: immune system, chickens, «Lignogumat kalievyy KD», blood whey.

При выращивании цыплят высокопродуктивных кроссов необходимо обращать повышенное внимание на развитие их иммунной системы. Цыплята с хорошо развитой иммунной системой менее подвержены воздействию как патогенной, так и условно-патогенной микрофлоры (влияние которой нельзя исключить даже при полном соблюдении всех правил содержания птицы), дают хорошие реакции при вакцинации, и в конечном итоге их содержание экономически выгоднее. При выращивании цыплят в промышленных условиях иммунная система несет высокую нагрузку: большое количество вакцинаций, воздействие многих стрессовых факторов – все это может негативно сказаться на развитии цыпленка в целом и его иммунной системы в частности, следовательно, необходимо применять препараты-иммуномодуляторы. Лигногумат калиевый КД – один из таких препаратов, его применение стимулирует развитие оптимальной резистентности цыплят. Мы провели серию опытов на цыплятах кросса Хайсекс коричневый, задавая им лигногумат калиевый КД с первого по 5 день жизни с кормом в дозах согласно наставлению (60 мг на 1 кг живой массы).

Для изучения влияния препарата на развитие иммунной системы цыплят мы провели разносторонние исследования крови – гематологические, биохимические, иммунобиологические, серологические; мы исходили из того, что кровь наиболее информативно отражает физиологические изменения организма.

Мы провели **гематологические исследования крови**, которые заключались в подсчете лейкоцитарных формул. Результаты исследования представлены в табл. 1.

В возрасте 10 дней лейкоцитарные формулы цыплят опытной группы мало чем отличались от лейкоцитарных формул цыплят контрольной группы – в опытной группе процент лимфоцитов был равен проценту лимфоцитов

контрольной группы; процент моноцитов на 2% (в 1,25 раза) ниже; процент базофилов на 2% (в 3 раза) выше; процент псевдоэозинофилов на 1% (в 1,04 раза) выше; процент эозинофилов на 1% (в 1,11 раза) ниже, чем в контрольной группе.

Таблица 1

Лейкоцитарные формулы цыплят опытной и контрольной групп

Процентное соотношение различных групп лимфоцитов			
Возраст цыплят, дни	Обозначения	Лигногумат в корм, опытная группа	Контрольная группа
10	Лимфоциты	52±0,14	52±0,13
	Моноциты	8±0,41	10±0,41
	Базофиллы	3±0,27	1±0,54
	Псевдоэозинофилы	28±0,14	27±0,27
	Эозинофилы	9±0,14	10±0,54
	30	Лимфоциты	60±1,08
Моноциты		7±0,14	7±0,14
Базофиллы		3±0,14	3±0,14
Псевдоэозинофилы		24±1,09	30±1,36
Эозинофилы		6±0,27	8±0,54
40		Лимфоциты	60±1,22
	Моноциты	7±0,41	8
	Базофиллы	3±0,27	2±0,14
	Псевдоэозинофилы	24±0,68	30±1,77
	Эозинофилы	6±0,41	8±0,41

Примечание: $p < 0,05$.



Однако в возрасте 30 дней отличия в лейкоцитарных формулах цыплят опытной группы от контрольной становятся более заметными – в опытной группе процент лимфоцитов на 8% (в 1,15 раза) выше, чем в контрольной группе; процент моноцитов равный; процент базофилов равный; процент псевдоэозинофилов на 6% (в 1,25 раза) ниже; процент эозинофилов на 2% (в 1,33 раза) ниже, чем в контрольной группе.

В возрасте 40 дней эти отличия сохраняются – в опытной группе процент лимфоцитов на 8% (в 1,15 раза) выше, чем в контрольной группе; процент моноцитов на 1% (в 1,14 раза) ниже; процент базофилов на 1% (в 1,5 раза) выше; процент псевдоэозинофилов на 6% (в 1,25 раза) ниже; процент эозинофилов на 2% (в 1,33 раза) ниже, чем в контрольной группе.

Таким образом, можно сказать, что у цыплят, которым давали лигногумат калиевый КД, в крови увеличивается процент лимфоцитов и снижаются проценты псевдоэозинофилов и эозинофилов. Большое количество лимфоцитов (но не выходящее за пределы нормы для данного вида) свидетельствует об активном развитии иммунной системы.

Для определения **иммунобиологических показателей** мы измеряли бактерицидную активность сыворотки крови (БАС) у цыплят в возрасте 66 дней. Измерение этого показателя дает нам возможность судить о суммарной активности факторов гуморального иммунитета – естественных антител и комплемента и лизоцима. Результаты исследования представлены в табл. 2 и на графике 1.

Таблица 2

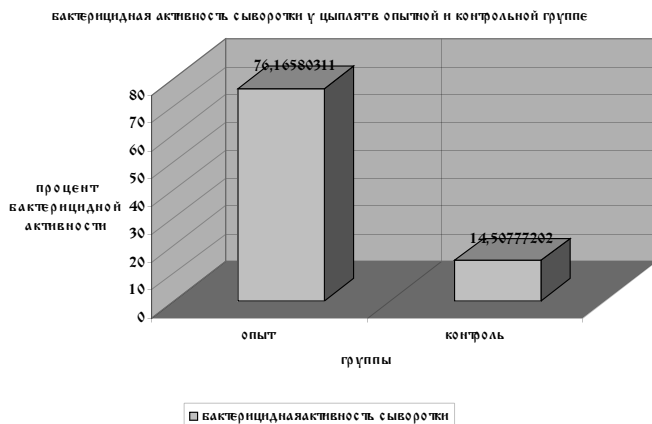
Бактерицидная активность сыворотки крови у цыплят в 66-дневном возрасте

Группа, % угнетения оптической плотности	БАС
Опытная группа (лигногумат в корм)	76,17±1,08
Контрольная группа	14,51±1,08

Примечание: $p < 0,05$.

График 1

Бактерицидная активность сыворотки крови у цыплят в 66-дневном возрасте



У цыплят опытной группы бактерицидная активность сыворотки крови в 5,25 раза превышает бактерицидную активность сыворотки крови у цыплят контрольной группы. Высокая бактерицидная активность сыворотки крови говорит не только о высоком уровне противомикробного действия факторов гуморального иммунитета, но и о том, что иммуностимулирующая терапия эффективна, то есть способствует хорошему развитию органов иммунной системы.

При исследовании **биохимических показателей** крови определяли содержание белка в сыворотке крови в 56- и 66-дневном возрасте, а также белковые фракции в крови цыплят в 66-дневном возрасте. Результаты исследования (средние данные) представлены в табл. 3–4 и на графиках 2–3.

Таблица 3

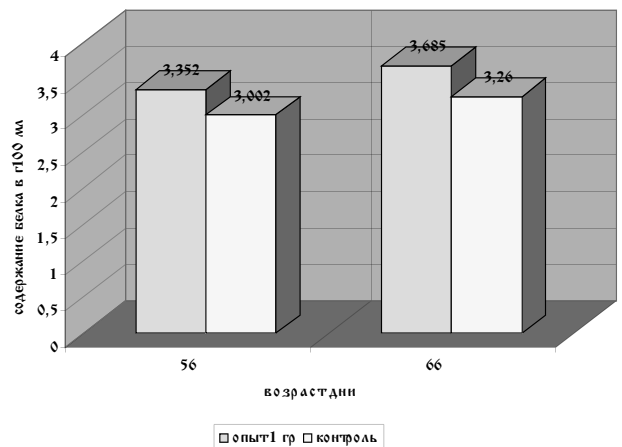
Содержание белка в сыворотке крови цыплят (г/100 мл)

Возраст цыплят	Опытная группа (лигногумат в корм)	Контрольная группа
56 дней	3,352±0,019	3,002±0,019
66 дней	3,685±0,023	3,26±0,023

Примечание: $p < 0,05$.

График 2

Содержание белка в сыворотке крови цыплят (г/100 мл)



Содержание белка в сыворотке крови цыплят в 56-дневном возрасте в опытной группе в 1,12 раза превышает содержание белка в сыворотке крови цыплят контрольной группы, а в 66-дневном возрасте – в 1,13 раза. Количество белка в сыворотке крови цыплят в опытной группе увеличивается быстрее, чем в контрольной группе, следовательно, содержание белка в сыворотке крови цыплят опытной группы быстрее достигнет уровня оптимального для взрослой курицы-несушки.

Для определения, насколько увеличение белка в сыворотке крови воздействует на иммунные процессы, мы провели определение белковых фракций в сыворотке крови цыплят в 66-дневном возрасте.

У цыплят опытной группы значительно увеличено количество гамма-глобулинов – в 1,42 раза по сравнению с контрольной группой и в 1,8 раза снижено количество



Птицеводство

бета-глобулинов, другие же белковые фракции (учитывая погрешность метода 4%) у цыплят опытной и контрольной групп остаются на одном уровне.

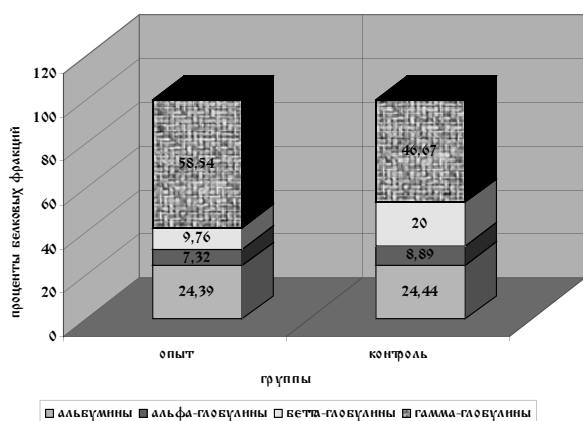
Таблица 4

Содержание белковых фракций в сыворотке крови цыплят в 66-дневном возрасте (в %)

Фракции белка	Опытная группа (лигногумат в корм)	Контрольная группа
Альбумины	24,39±4	24,44±4
Альфа-глобулины	7,32±4	8,89±4
Бета-глобулины	9,76±4	20±4
Гамма-глобулины	58,54±4	46,67±4

График 3

Содержание белковых фракций в сыворотке крови цыплят в 66-дневном возрасте (в %)

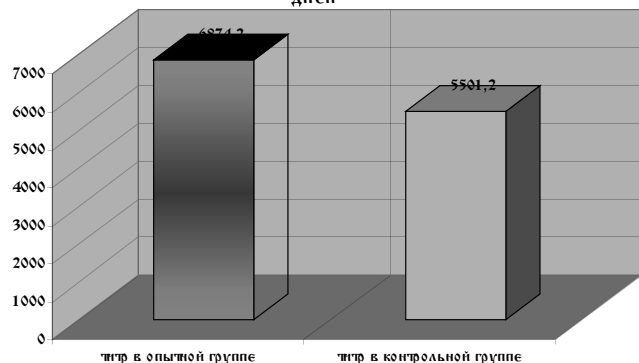


Основной частью гамма-глобулинов являются антитела, следовательно, применение препарата «Лигногумат калиевый КД» стимулирует образование антител в организме цыплят.

Для подтверждения хорошего развития иммунной системы цыплят мы провели **серологические исследования** сыворотки крови цыплят на наличие антител к болезни Ньюкасла в 90 дней. В опытной группе титр антител был равен 6874,2, а в контрольной группе – 5501,2. Результаты исследования представлены на графике 4.

График 4

титр антител на болезнь Ньюкасла у цыплят в возрасте 90 дней



Количество антител к болезни Ньюкасла соответствует базовым нормам и у цыплят опытной, и у цыплят контрольной группы, но средний титр антител на NDV в опытной группе в 1,25 раза выше, чем в контрольной группе.

Таким образом, на основании проведенных исследований мы можем сделать вывод, что получение цыплятами лигногумата калиевого КД положительно воздействует на развитие их иммунной системы, следовательно, позволяет вырастить здоровую курицу-несушку с высокой устойчивостью к различным заболеваниям.

Список литературы

1. Бессарабов Б.Ф., Дугин А.В. Гуминовый стимулятор репродуктивной системы птицы. М.: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, НПО «РЭТ».
2. Бессарабов Б.Ф., Алексеева С.А., Клетикова Л.В. Лабораторная диагностика клинического и иммунологического статуса у сельскохозяйственной птицы. М.: КолосС, 2008.
3. Медведева М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. М.: ООО «Аквариум-Принт», 2008.

Контактная информация:
Малова Надежда Михайловна
8(903)1339525



УДК 619:616.1/8:636.5/6 (075.8)

А.А. ПИСАРЕНКО, Б.Ф. БЕССАРАБОВ, В.А. ОСТАПЕНКО*ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»*

МЕРОПРИЯТИЯ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ СОХРАННОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ДИКИХ ПТИЦ: ДЕЗИНФЕКЦИЯ, ИСКУССТВЕННАЯ ИНКУБАЦИЯ ЯИЦ В УСЛОВИЯХ ТРАНСПОРТИРОВКИ

В работе изложены результаты экспедиционных работ на полуострове Канин Архангельской области, проведенных с 25.05 по 20.06.2004 г. и с 20.05 по 14.06.2005 г. Использовали метод искусственной инкубации для ряда видов водоплавающих и околоводных птиц, включая белошеких казарок. Лучшие результаты по инкубации получены в малогабаритном переносном инкубаторе. Перевоз свежеотложенных яиц без инкубатора возможен, но результаты несколько хуже. Исследована микрофлора с поверхности скорлупы яиц.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: редкий вид, искусственная инкубация, микрофлора, популяция.

A.A. PISARENKO, B.F. BESSARABOV, V.A. OSTAPENKO*Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K.I. Skryabin*

THE ACTIONS PROVIDING SAFETY SOME SPECIES OF WILD BIRDS: DISINFECTION, ARTIFICIAL INCUBATION OF EGGS IN THE CONDITIONS OF TRANSPORTATION

In work results of forwarding works on Kanin peninsula are stated the Arkhangelsk area, spent from 25.05 for 20.06.2004 and from 20.05 for 14.06.2005. Used a method artificial incubation for a number of kinds natatorial and околоводных birds, including белошеких казарок. The best results on incubation are received in a small-sized portable incubator. Transportation свежеотложенных eggs without an incubator is possible, but results are a little bit worse. The microflora from a surface of a shell of eggs is investigated.

KEYWORDS: rare species, artificial incubation, microflora, population.

В наше время из-за повышения антропогенного прес-са в биосфере целый ряд видов птиц переходит в категорию редких и исчезающих. Только за последние четыре столетия с лица земли исчезло около 400 видов позвоночных животных. Особенно быстрыми темпами стали вымирать представители флоры и фауны в последние годы, что требует применения экстренных мер по их спасению. В сохранении редких видов птиц могут помочь зоопарки и специализированные орнитологические питомники. В их задачи входит: проведение научно-просветительных программ; исследование методов содержания, разведения и реинтродукции диких животных; изучение методов профилактики и лечения их заболеваний; проведение других научно-исследовательских работ.

Птицы – одна из самых любимых и традиционно содержащихся в зоопарках и питомниках группа животных. Количество видов птиц в природе превышает количество видов любой другой наземной группы (класса) позвоночных животных, достигая 8600. Многообразие их форм, красота оперения, интересное поведение делают птиц желанным объектом зоокультуры. В последнее время при разведении птиц различных таксонов начинают разрабатываться и использоваться новые современные методы. Такие как искусственная инкубация и выращивание молодняка, используются методы искусственного осеменения и криоконсервации половых продуктов птиц. В результате начинают разводиться виды птиц, которые раньше могли лишь содержаться в коллекциях зоопар-

ков и специализированных орнитологических питомников [1, 2, 3].

В зоопарки и питомники многие виды птиц попадают непосредственно из природы. Встает вопрос: как изъять их из природы с наименьшим ущербом для популяции. Другая проблема – вольным птицам, отловленным в природе, сложно акклиматизироваться в новых условиях (неволи), в то же время полученный и выращенный в искусственных условиях молодняк не подвергается постоянному стрессу, легко адаптируется и хорошо размножается. Это относится и к тем видам, которые в природе становятся редкими. Таким образом, как показала практика, для пополнения коллекции птиц целесообразней изымать нужных птиц из природы путём сбора яиц с последующей искусственной инкубацией и выращиванием молодняка. Используя этот метод, мы наносим наименьший ущерб природе, не более чем, например, естественное разорение гнезд хищными животными. Ведь птицы делают повторную кладку, компенсируя естественные потери, выводят и выращивают молодняк.

В связи с этим было совершено две экспедиции, инициатором которых стал Московский зоологический парк: в период с 25.05.04 по 20.06.04 г. и 20.05.05 по 14.06.05 г. на полуостров Канин. Он расположен на севере Европейской части России в Ненецком Автономном округе Архангельской области. Базировались экспедиции в поселке Шойна. Перед экспедициями была поставлена задача по сбору яиц птиц, гнездящихся в северных ре-

Птицеводство

гионах РФ, сохранению яиц и получению полноценного потомства в условиях зоопарка.

Нами были собраны и исследованы яйца белощёкой казарки *Branta leucopsis* с последующей искусственной инкубацией в условиях Московского зоологического парка и его Зоопитомника, расположенного в Волоколамском районе Московской области. В первый год было собрано 107 яиц, во второй – около 200.



Рис. 1. Белощёкая казарка *Branta leucopsis* на гнезде

Следует отметить, что весна 2004 года в Арктике была очень суровой. Прибыть на место экспедиции удалось только 9 июня, а с 6 на 7 июня, как это часто бывает, произошел подъем воды из-за сильного ветра (24 м/сек – по показаниям метеостанции в поселке Шойна) и штормом, который смыл все гнезда из колонии белощёких казарок, расположенной на пологом берегу устья реки Шойна. Общая численность казарок в колонии оценивается нами в 10 000. Накануне шторма, 3-4 июня, многие местные жители успели побывать в колонии казарок и собрать яйца для еды, заготовив их в значительном количестве. Подавляющее число этих яиц было ненасыженным, поэтому мы приобрели бóльшую их часть. Мы обследовали колонию казарок 10 июня, где удалось собрать только 12 яиц. Птицы, у которых яйцекладка была не завершена, откладывали по 2-3 яйца в сырые, наспех поправленные гнёзда и приступали к насиживанию (рис. 1), о чем свидетельствовало присутствие в гнёздах пуха и пера (рис. 2).



Рис. 2. Гнезда белощёкой казарки, неполные кладки

В последующие дни пребывания экспедиции на местах гнездования было принято решение больше не проводить сбор яиц белощёкой казарки, так как вероятность насиженности яиц увеличивалась. Это приводило к негодности яиц для транспортировки в Московский зоологический парк – предполагалась гибель эмбрионов при прерывании естественной инкубации.



Рис. 3. Взятие смыва

При изъятии яиц из гнёзд были взяты микробиологические смывы в пробирки с угольной средой, которая позволяет сохранить микробиологическую картину неизменённой (рис. 3). Яйцам присваивался номер, они укладывались в контейнеры и аккуратно перекалывались травой. Далее транспортировались на лодке на место базирования экспедиции. Приобретенные у местного населения яйца также пронумеровывались. Далее все яйца промеряли, отмечали календарное время сбора яиц, и все полученные данные заносились в экспедиционный дневник. Собранные яйца обрабатывались дезинфицирующими растворами бактерицидного, фунгицидного, противовирусного и спороцидного действия, препаратами Глютекс и ВВ-1.

Чтобы лучше прояснить микробиологическую картину на местах гнездования белощёких казарок, во время экспедиции также были взяты смывы со скорлупы яиц диких видов птиц, гнездящихся как на местах остановок во время сезонных миграций белощёкой казарки, так и в непосредственной близости от мест её гнездования. Смывы были взяты с кладок таких видов птиц, как широ-



коноска (*Anas clypeata*) (рис. 4), гуменник (*Anser fabalis*) (рис. 6) и белая куропатка (*Lagopus lagopus*) (рис. 5).



Рис. 4. Кладка широконоска



Рис. 5. Кладка белой куропатки

При сборе яиц в природе с целью искусственной инкубации диких птиц специалисты сталкиваются с проблемой насиженности яиц. Когда обнаружена полная кладка, в яйце уже, как правило, присутствуют эмбрионы и если такие яйца снять с гнезда без последующей немедленной инкубации, эмбрион погибнет. Поэтому в экспедиции ставился опыт по искусственной инкубации насиженных яиц.



Рис. 6. Кладка гуся гуменника

В экскурсионные маршруты брали литровый термос с металлической колбой и широким горлом, в который

заливалась горячая вода. При обнаружении кладки яйца вода из термоса удалялась, термос быстро протирался, пока металлическая колба не остыла, закладывались найденные яйца с частью гнездовой выстилки, чтобы избежать механических повреждений, и медицинский градусник. Таким образом, как показала многократная транспортировка яиц этим методом, в термосе сохранялась температура $36,6 \pm 0,2^\circ\text{C}$ в течение 3-4 часов. Затем яйца помещались в малогабаритный, рассчитанный на 50 куриных яиц, инкубатор ИБ КОМКАС-50, эксплуатируемый от сети переменного тока 220 В, резервное – 12 В постоянного тока (аккумуляторная батарея ёмкостью не ниже 6СТ-50), при температуре $37,5^\circ\text{C}$ и влажности 60%. При дальнейшей искусственной инкубации в период транспортировки яйца с целью защиты от механических повреждений оборачивали в туалетную бумагу (рис. 7).

При временном отсутствии электроэнергии или при невозможности использования аккумуляторной батареи в целях соблюдения безопасности инкубатор оборачивался пуховым спальным мешком и транспортировался далее в таком виде (рис. 8). Так сохранялось тепло.



Рис. 7. Подготовка яиц для транспортирования в малогабаритном инкубаторе



Рис. 8. Упаковка инкубатора в пуховой спальном мешок

Такие препятствия возникали в авиатранспорте, при пересадках инкубатор на время подключался к сети, в поезде инкубатор работал от аккумуляторной автомобильной батареи. Эта идея была позаимствована нами у американских орнитологов, успешно транспортирующих яйца журавлей [4].

Все яйца, инкубируемые в дороге, а это 12 яиц гуменника и 8 яиц белой куропатки, были успешно транспортированы и проинкубированы в условиях Московского зоопарка. От изъятия яиц из кладок до прибытия в Москву прошло 10-14 дней. Вывод составил 10 птенцов гуменника из 12 (83,3%) и 8 птенцов белой куропатки (100%). Одно яйцо гуменника оказалось неоплодотворенным, а во втором гибель птенца произошла на выводе. Яйца широконоски, отправленные в транспортной коробке без инкубации, погибли. В них эмбрионы и все содержимое яиц были поражены грибковой флорой.

Собранные яйца белошёркой казарки в количестве 107 экз. хранились в помещении при температуре воздуха 10-12°C в течение недели. Транспортировались яйца в Москву в контейнерах и были помещены в инкубатор в условиях Московского зоопарка по прибытии 18.06.04 г., кроме 12 яиц, отобранных на морфологические исследования. Вывод птенцов протекал в течение двух дней – 15 и 16.07.04 г.

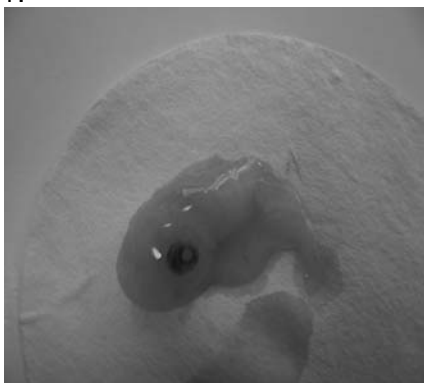


Рис. 9. Эмбрион, погибший на 10-й день инкубации



Рис. 10. Скорлупа яйца с нарушением целостности

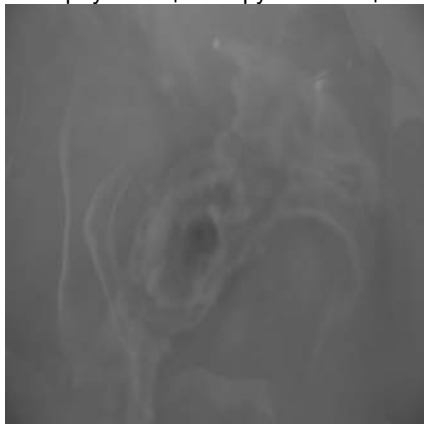


Рис. 11. Эмбрион, погибший на ранней стадии

Результаты инкубации следующие. Успешно вывелось 23 птенца (24,2%), неоплодотворённых яиц – 18 (19%), погибших на ранних стадиях эмбрионов в результате прерывания естественной инкубации – 19 яиц (20%), погибшие на 10-й день искусственной инкубации – 8 яиц (8,4%), гибель на выводе в результате перегрева яиц – 17 (17,9%), 5 яиц было отправлено на бактериологическое исследование (5,3%), 4 яйца – с кровавым кольцом (4,2%).

Все взятые со скорлупы яиц смывы были отправлены на лабораторные исследования. Получены такие результаты: при бактериологическом исследовании смывов со скорлупы яиц широконоски выявлена вирулентная для белых мышей культура *Pseudomonas aeruginosa* и *Streptococcus galinarum*. В смывах со скорлупы яиц белой куропатки выделены те же культуры плюс *Micrococcus luteus* и грибки *Penicillium citrinum* и *Candida glabrata*. При бактериологическом исследовании со смывов, сделанных в периоды экспедиции со скорлупы яиц белошёркой казарки, выделена культура *Micrococcus luteus* и грибка *Penicillium citrinum*. При бактериологическом исследовании содержимого яиц белошёркой казарки микрофлоры не выявлено.

При вскрытии отходов инкубации яиц белошёркой казарки было видно, что птенцы погибли от перегрева, неправильного положения в яйце [5]. Аллантаис отёчный, желточный мешок не втянут в брюшную полость, отмечены кровоизлияния в желточный мешок, что характерно для перегрева во второй половине инкубации (рис. 12, 13). На некоторых образцах патологоанатомического материала было отмечено искривление лапок и клюва, что характерно для гиповитаминозов (рис. 14-15). Этим в какой-то мере подтверждается предположение орнитологов о недостатке кормовой базы белошёрких казарок на местах зимовок.



Рис. 12-13. Признаки перегрева яиц во время искусственной инкубации (не втянутый желточный мешок, кровоизлияния)



Рис. 14-15. Признаки гиповитаминоза у эмбрионов на поздних стадиях инкубации (искривленные клюв и лапки)

Выводы

1. Все взятые со скорлупы яиц смывы были отправлены на лабораторные исследования: при бактериологическом исследовании смывов со скорлупы яиц утки широконоски выявлена вирулентная для белых мышей культура *Pseudomonas aeruginosa* и *Streptococcus gallinarum*. В смывах со скорлупы яиц белой куропатки выделены те же культуры плюс *Micrococcus luteus* и грибки *Penicillium citrinum* и *Candida glabrata*. При бактериологическом исследовании со смывов, сделанных в период экспедиции со скорлупы яиц белошейной казарки, выделена культура *Micrococcus luteus* и грибка *Penicillium citrinum*. При бактериологическом исследовании содержимого яиц белошейной казарки микрофлоры не выявлено. Отмечена чувствительность условно-патогенных культур к дезинфицирующим препаратам ВВ 1 и Глютекс.

Отмытые от загрязнений яйца делились на три группы и сразу же дезинфицировались двумя дезинфицирующими растворами аэрозольным методом:

- 1) Глютекс разведением 1:200 (0,5%-ным раствором);
- 2) ВВ 1 разведением 0,25%;
- 3) контрольная группа (не обрабатываемые дезинфектантами яйца).

2. Транспортировка яиц осуществлялась в пенопластовых контейнерах из-под лабораторной посуды, уложенных на промышленные яичные лотки, предваритель-

но обработанные препаратами Глютекс и ВВ 1, в течение не более двух суток.

В экспедициях мы постоянно сталкивались с проблемой насиженности яиц птиц ценных для коллекции Московского зоопарка, поэтому мы ставили опыт по инкубации в условиях транспортировки. Эти яйца транспортировались и инкубировались прямо в дороге в переносных малогабаритных инкубаторах при температуре и режиме, подбираемых в зависимости от вида птицы [5].

3. После осуществленной дезинфекции и транспортировки с мест гнездования в условия зоопарка все яйца, инкубируемые в дороге были успешно транспортированы и проинкубированы в условиях Московского зоопарка. Вывод составил от 83,3% до 100%.

Результаты инкубации яиц белошейной казарки, транспортировавшихся в контейнерах, показали невысокую выживаемость – вывелось лишь 24,2% молодняка.

Таким образом, выяснилось, что лучшие результаты получены от непрерывной инкубации яиц малогабаритными инкубаторами и транспортировке яиц в них. Транспортировка свеженесенных яиц в необогреваемых контейнерах также возможна, но увеличивается риск «прерванной инкубации» в случае, если часть яиц уже была насижена самкой.

Список литературы

1. Остапенко В.А. Значимые и наиболее перспективные программы по сохранению гусеобразных на постсоветском пространстве // Орнитологические исследования в зоопарках и питомниках. Вып.2. М.: Московский зоопарк, 2007. С. 5-11.
2. Остапенко В.А., Рожков П.С., Рожкова Т.В. и др. Создание первичного племенного поголовья стрепетов в зоологическом парке – этап реализации программы сохранения редкого вида птиц // Естественные науки, 2008. № 3(24). С. 76-78.
3. Остапенко В.А., Виноградов С.И., Рожков С.П. Разведение птиц редких видов в зоопарках и питомниках: Сб. «Сохранение разнообразия животных и охотничье хозяйство России»: Мат. 3-й Межд. науч.-практ. конф. М., 2009. С. 318-320.
4. Эллис Д., Ги Дж. Ф., Миранде К.М. (ред.) Журавли: биология, разведение и охрана (отдельные главы) / Пер. с англ. Е.Г. Руковской. М.: Московский зоопарк, 2003. 201 с.
5. Бессарабов Б.Ф. Инкубация яиц с основами эмбриологии сельскохозяйственной птицы: Учебн. пос. для вузов. М.: КолосС, 2006. 240 с.

Контактная информация:
Остапенко В.А. v-ostapenko@list.ru



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ КУРКУМЫ В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО РАДИОПРОТЕКТОРА

В работе, представленной автором, в качестве радиозащитного средства исследуется применение растительного препарата на основе куркумы. Экспериментально выявлено повышение выживаемости лабораторных животных при облучении в летальных дозах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: куркума, радиация.

A.V. POZDEEV

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

V.K. PROMONENKOV

S. «Limex-Pharma», Moscow

N.P. LYSENKO, I.V. TIKHONOV

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

USE OF THE PREPARATION ON THE BASIS OF CURCUMA AS THE POTENTIAL RADIO PROTECTOR

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

KEYWORDS: ionizing radiation, curcumin.

Обоснованием для выбора препаратов на основе куркумы в качестве потенциальных радиопротекторов послужили многочисленные данные об их способности весьма позитивно влиять на жизненно важные процессы.

Куркума длинная (*Curcuma longa* L.) происходит из Восточной Индии и Вьетнама. Сырая куркума содержит от 0,3 до 5,4% куркумина, эфирного масла – 4-14%, включая тумерон, атлантон, цингиберон, которые обладают лекарственными свойствами. В её состав входят также сахара (28% глюкозы, 12% арабинозы), белки и смолы.

В индийской и китайской медицине куркуму широко употребляют уже тысячи лет. В последние годы было проведено немало медицинских исследований, в результате которых западные специалисты признали куркуму одним из самых чудодейственных средств.

Куркумин известен своими антиоксидантными, противоопухолевыми, противоамелойдными и противовоспалительными свойствами [1-5].

Целью исследования являлось изучение действия жидкого препарата куркумы на выживаемость мышей при ионизирующем облучении. Задача исследования заключалась в оценке противолучевого действия куркумы.

Методика исследований. На производственных мощностях ООО «Лимекс-Фарма» (г. Москва) был произведён из растительного сырья жидкий препарат куркумы, полученный по специальной технологии полифазной экстракции с последующим концентрированием и стабилизацией. Для экспериментов исследовался препарат куркумин в разведении с физраствором 1:3. Перед применением куркумин разливали во флаконы ёмкостью 20 мл, для стерилизации добавляли стрептомицина сульфат. Исследование радиозащитных свойств проводили на белых беспородных мышах в количестве 60 штук. Были сформированы группы: контрольная и испытуемые. Также была проверена полулетальная доза облучения. Животные были облучены дозой 600 Р и 700 Р. Затем облучение продолжилось с опытными и контрольной группами. Животные были подвергнуты однократному тотальному равномерному воздействию гамма-излучения Cs-137 на установке «Панорама» при мощности 4,3 Р/мин. в дозах 12, 18 Гр (1400 Р). Препарат вводили внутримышечно в объёме 0,2 мл. Животные были разделены на группы:

1) введение куркумина за 12 ч до облучения;



Выживаемость мышей при дозе облучения 1400 Р (12, 18 Гр)

Группы	Кол-во животных	Результат	Сутки									
			5	7	8	23	25	26	27	28	30	Более 30 сут.
1	10	Пало					1	1	5			
		Выжило				9	8	3			3	2
2	10	Пало						2	6			
		Выжило					8	2			2	2
3	10	Пало						1	7		1	
		Выжило					9	2			1	1
4	10	Пало					2	3				1
		Выжило					8	5	5		5	4
5	10	Пало							6		4	
		Выжило							4		0	
6	10	Пало				7			1			
		Выжило				3	3	3	2	1	1	1
7	10	Пало	2	5	3							
		Выжило	8	3	0							

2) введение куркумина за 20-30 минут до облучения;
3) введение куркумина через 20-30 минут после облучения;

4) введение куркумина через 20-30 минут и на 5 сутки после облучения;

5) введение куркумина за 20-30 минут до облучения и через 20-30 минут после;

6) введение куркумина за 20-30 минут до облучения и через 20-30 минут после облучения и на 5 сутки;

7) контроль (препарат не вводили).

Основными показателями эффективности применения куркумина служили выживаемость животных в течение 30 суток после облучения, продолжительность жизни мышей, фактор изменения дозы (ФИД).

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

Полулетальная доза облучения для мышей составила 600 Р (6 из 10 остались живы) и 700 Р (5 из 10 животных остались живы).

Практически во всех группах животные, облучённые сверхсмертельной дозой в 1400 Р и получавшие препарат, в единичных количествах особей дожили до 30 суток.

Выживаемость в группе № 4 (введение куркумина через 20-30 минут и на 5 сутки после облучения) достигла 50%, что является предопределяющим для выведения показателя эффективности радиопротектора – фактора изменения дозы.

$$\text{Фактор изменения дозы (ФИД)} = \frac{\text{Доза, вызывающая ЛД 50/30 с препаратом}}{\text{Доза, вызывающая ЛД 50/30 без препарата}}$$

Коэффициент (ФИД) препарата куркумина, введённого через 20-30 минут после облучения и последующего введения на 5 сутки, составляет 2,0.

В целом, оценивая «протективные свойства» куркумина в «запредельных» дозах облучения, следует отметить, что его применение увеличивает продолжительность жизни мышей в сравнении с контролем, эффективно как до облучения, так и после, при 100%-ной гибели в контроле. Животные переболели лучевой болезнью и пережили 30-дневный рубеж.

Выводы. Впервые проведёно исследование куркумина в качестве радиозащитного препарата. В лабораторных условиях показана его эффективность до и после облучения. Фактор изменения дозы равен 2,0. Результаты экспериментов свидетельствуют о перспективности использования и дальнейшего изучения препаратов куркумина в качестве потенциальных радиопротекторов.

Список литературы

1. Харламова О.А., Кафка Б.В. Натуральные пищевые красители. М.: Пищевая промышленность, 1979. С. 29-137.
2. Curcumin inhibits Hypoxia-inducible Factor-1 by degrading aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator: a mechanism of tumor growth inhibition // Molecular Pharmacology, 2006.
3. Kelloff G.J., Crowell J.A., Hawk E.T. et al. Strategy and planning for chemopreventive drug development: clinical development plans II // J. Cell Biochem, 1996. 63:54-71.
4. Kawamori T., Lubet R., Steele V.E. et al. Chemopreventative effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer // Cancer Res., 1999. 59:597-601.
5. Rao C.V., Rivenson A., Simi B., Reddy B.S. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound // Cancer Res., 1995. 55:259-66.

Контактная информация:
Поздеев А.В. 8 915 902 53 42



ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ СЕДИМИНА-Fe⁺ И СЕДИМИНА-Se⁺

В результате проведенных исследований установлено, что данные препараты по степени воздействия на организм в соответствии с нормативами ГОСТ 12.1.007-76 относятся к 4 классу опасности – вещества малоопасные.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Седимин-Fe⁺ и Седимин-Se⁺, токсичность, LD₅₀.

S.N. VARNAVSKIY, A.A. DELTSOV, D.N. URAZAEV

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

THE STUDY OF THE SEDIMMIN-Fe⁺ AND SEDIMIN-Se⁺ ACUTE TOXICITY

As the result of the study it was established that for their effect degree to the organism and in accordance with the State Standart 12.1.007-76 the preparation can be ranked to the 4th class of dangerous preparations – low-hazard drugs.

KEYWORDS: Sedimmin-Fe⁺ and Sedimin-Se⁺, toxicity, LD₅₀.

На состояние здоровья и продуктивность животных значительное влияние оказывают минеральные вещества за счёт регуляции обменных процессов в организме, а при интенсивном ведении животноводства это влияние возрастает.

В настоящее время актуальной является проблема недостаточного поступления в организм животных железа, йода и селена. Дефицит железа имеет место у молодняка почти всех видов животных в первые недели жизни, что объясняется быстрым расходом запасов этого металла для синтеза гемоглобина и его незначительным содержанием в молоке [1, 2]. У подсосных поросят это приводит к развитию алиментарной железодефицитной анемии, наносящей значительный экономический ущерб [3, 4].

Проблемы с поступлением йода в организм возникают из-за недостаточного содержания этого элемента в почве. К районам йодной недостаточности относятся Кавказ, Урал, Средняя Азия, Алтай, Забайкалье, районы Восточной Сибири, а также вся нечерноземная зона [5, 9].

Значительное число регионов России и ближнего зарубежья относится к селенодефицитным: Восточная Сибирь, Забайкалье, Урал, Поволжье, Якутия, Бурятия, Коми; Нижегородская, Ленинградская, Архангельская, Тюменская, Томская, Омская, Новосибирская, Псковская, Новгородская, Калужская, Брянская, Ярославская области, Северо-запад Украины, Белоруссия, Киргизия [9-12].

Эти микроэлементы регулируют ключевые биохимические реакции в организме. Дефицит селена, йода и железа может привести к развитию различных патологий.

Дефицит йода в организме может повлиять на обмен железа, при этом наблюдается нарушение гемопоэза, понижение уровня гемоглобина в крови [3, 4].

Существует много факторов, снижающих усвоение организмом животных данных микроэлементов из корма, поэтому целесообразно вводить их парентеральным путем [6, 7, 8].

В настоящее время широко применяется целый ряд железодекстрановых препаратов, таких как ферроглюкин-75, декстрофер-100, урсоферран и т. д.

Существуют препараты для парентерального применения, содержащие селен: Е-селен, деполен, раствор селенита натрия и др. [9]. Разработан препарат ДИФ-3 для внутримышечного введения, в состав которого входят йод и железо [9, 10]. Однако на данный момент нет ни отечественных, ни зарубежных препаратов для парентерального применения, которые бы включали в свой состав все три компонента: селен, йод и железо [5, 7, 11, 12].

ООО фирмой А-БИО (г. Пушкино) были разработаны новые комплексные препараты «Седимин-Fe⁺» и «Седимин-Se⁺», которые представляют собой модификации, зарегистрированного, широко известного и применяющегося препарата «Седимин».

Седимин-Fe⁺ – лекарственное средство в виде раствора для инъекций, представляющее собой водный раствор комплексного соединения низкомолекулярного декстрана с железом (III), стабилизированного селена и йода. 1 см³ лекарственного средства содержит: железо (III) – 50 мг, йод – 5,5-7,5 мг, селен – 0,07-0,09 мг (соответствует 0,16-0,20 мг/см³ селенита натрия); вспомогательные вещества – поливинилпирролидон, вода для инъекций.

Седимин-Se⁺ аналогичный препарат, 1 см³ лекарственного средства содержит: железо (III) – 18-20 мг, йод – 5,5-7,5 мг, селен – 0,15 мг (соответствует 0,32-0,40 мг/см³ селенита натрия).

Отмечая перспективность данной проблемы и в соответствии с требованиями к лекарственным средствам (приказ ДВ МСХ РФ №31 от 23.10.95), нами проведены исследования по изучению острой токсичности данных препаратов.

Материалы и методы. Работа осуществлялась на кафедре фармакологии и токсикологии ФГОУ ВПО МГАВМиБ. Изучение острой токсичности проходило в соответствии с руководством по экспериментальному (соответствующему) изучению новых фармакологических веществ (Р.У. Хабриев, 2005) и с соблюдением правил, предусмотренных Европейской комиссией по надзору за



Результаты изучения острой токсичности при внутрижелудочном введении

Группа	Объем препарата, мл	Доза Fe(III), мг/кг	Доза I, мг/кг	Доза Se, мг/кг	Пало	Выжило
1. Седимин-Fe+	1	312,5	46,9	0,562	0	10
2. Седимин-Fe+	3	937,5	140,7	1,686	0	10
3. Седимин-Fe+	5	1562,5	234,5	2,81	0	10
4. Седимин-Fe+	10 (двукратно по 5 мл с интервалом 4 ч)	3125	469	5,62	0	10
5. Седимин-Fe+	15 (трехкратно по 5 мл с интервалом 4 ч)	4687,5	703,5	8,43	0	10
6. Седимин-Se+	1	125	46,9	0,937	0	10
7. Седимин-Se+	3	375	140,7	2,811	0	10
8. Седимин-Se+	5	625	234,5	4,685	0	10
9. Седимин-Se+	10 (двукратно по 5 мл с интервалом 4 ч)	1250	469	9,73	0	10
10. Седимин-Se+	15 (трехкратно по 5 мл с интервалом 4 ч)	1875	703,5	14,055	0	10
11. Контроль		-	-	-	0	10

проведением лабораторных и других опытов с участием экспериментальных животных разных видов.

Острая токсичность – вредное действие препарата, проявляющееся после его однократного или повторного введения через короткие интервалы в течение суток.

Целью изучения острой токсичности является определение переносимых, токсических и летальных доз фармакологического вещества и причин наступления гибели животных.

Объектом исследования служили белые крысы массой тела 160-165 г обоего пола, разделенные на группы по 10 животных в каждой, в зависимости от дозы и пути введения препарата. Все животные находились в одинаковых условиях вивария и содержались на стандартном рационе. Препарат вводили как энтерально (внутрижелудочно при помощи зонда с оливой), так и парентерально (подкожно, внутримышечно, внутрибрюшинно). Животным контрольной группы в соответствующих объемах вводили стерильный изотонический раствор натрия хлорида. Наблюдение за животными вели в течение 14 дней, отмечали наступление и исчезновение симптомов отравления животных, их гибели, изменения общего состояния животных, потребление корма и воды, отправление физиологических потребностей.

По окончании срока наблюдения все животные подвергались эвтаназии и патологоанатомическому исследованию.

Результаты исследований. Результаты исследований представлены в табл. 1.

В результате проведенных исследований установлено, что однократное оральное введение Седимина-Fe+ в дозах 312,5 и 937,5 мг/кг и Седимина-Se+ в дозах 125 и 375 мг/кг массы тела Fe (III) не оказывает отрицательного влияния на поведение животных и не вызывает признаков токсикоза. При введении Седимина-Fe+ в дозах 1562,5; 3125 и 4687 мг/кг и Седимина-Se+ в дозах 625; 1250 и 1875 мг/кг массы тела Fe (III), отмечалось кратковременное угнетение животных в течение 5-15 минут, что связано с введением большого объема жидкости и давлением ее на стенки желудка, что подтверждается аналогичной картиной в контрольной группе.

При изучении острой токсичности при парентеральном пути введения максимально допустимые объемы жидко-

сти для крыс при подкожном, внутримышечном и внутрибрюшинном способах являются соответственно 10, 5 и 5 мл. В результате проведенных исследований установлено, что при подкожном введении Седимина-Fe+ в дозе 3125 мг/кг и при внутримышечном и внутрибрюшинном введении препарата в дозе 1562 мг/кг массы тела Fe (III), при подкожном введении Седимина-Se+ в дозе 1250 мг/кг, при внутримышечном и внутрибрюшинном введении в дозе 625 мг/кг массы тела Fe (III), отмечалось кратковременное угнетение и нарушение двигательной активности, что также являлось следствием введения большого объема жидкости и подтверждалось схожей картиной у животных в контрольных группах. Далее во время наблюдения других изменений в поведении животных не отмечалось, их состояние характеризовалось как удовлетворительное.

При патологоанатомическом исследовании животных опытных групп установлено лишь изменение окраски тканей в месте инъекции препарата, которые приобрели ржаво-бурый оттенок, что объясняется цветом препарата. Других визуальных изменений не отмечалось.

Дальнейшее повышение вводимой дозы нецелесообразно и невозможно, поэтому точные значения ЛД₅₀ и ЛД₁₀₀ установить не представилось возможным, так как вводимые нами дозы не вызывали гибели животных. Величины ЛД₅₀ и ЛД₁₀₀ будут больше максимально вводимых нами доз.

В результате проведенных исследований установлено, что данные препараты по степени воздействия на организм в соответствии с нормативами ГОСТ 12.1.007-76 относятся к 4-му классу опасности – вещества малопасные (табл. 2).

Таблица 2

Классификация химических веществ по степени опасности (ГОСТ 12.1.007.76)

Показатель	1-й класс, чрезвычайно опасные	2-й класс, высокоопасные	3-й класс, опасные	4-й класс, незначительно опасные
Средняя смертельная доза в желудок, мг/кг	Менее 15	15-150	151-5000	Более 5000



Список литературы

1. Алексеев Н.А. Анемии СПб: Гиппократ, 2004. 512 с.
2. Араунов М.Н. Проблемы экологии и токсикология животных // Теоретические и практические аспекты возникновения и развития болезней животных и защита их здоровья в современных условиях: Мат. межд. науч. конф. Воронеж, 2000. Т. 2. С. 4-7.
3. Бернштейн Т.О. Влияние селена на некоторые показатели специфического и неспецифического иммунитета у животных: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Рига, 1974.
4. Вишняков С.И. Патология белкового обмена у сельскохозяйственных животных: Обзорная информация // М., 1983. 58 с.
5. Георгиевский В.И., Анненков Б.Н., Самохин В.Т. Минеральное питание животных / М.: Колос, 1979. 472 с.
6. Гуревичев П.А., Дельцов А.А., Уразаев Д.Н. Железодекстрановые препараты в ветеринарии: Мат. первого съезда вет. фармакологов России. Воронеж, 2007. 699 с.
7. Зельцер М.Е. Влияние дефицита йода в питании на специфический иммунитет и некоторые механизмы его развития // Проблемы биологического значения дефицита йода в биосфере: Труды ин-та краевой патологии. Алма-Ата, 1972. Т. 24. С. 101-105.
8. Карелин А.И. Анемия поросят. М.: Колос, 1983. 166 с.
9. Ковальский В.В. Геохимическая экология. М.: Колос, 1974. 281 с.
10. Кузнецова Т.С. Антиоксидантный статус и неспецифическая резистентность организма свиней при использовании различных соединений селена: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Боровск, 1999.
11. Романова М.И. Терапевтическое действие соединений селена и методы его определения в биологических объектах // Новое в методах исследования, диагностики, лечения и профилактики важнейших заболеваний. М., 1979. С. 44-46.
12. Эюбов И.З. Производственное испытание влияния селена на плодовитость овец // Селен в биологии: Мат. третьей научн. конф. Баку, 1981. С. 203-204.

Контактная информация:
Дельцов А.А. deltsou-81@mail.ru

УДК 636:612,015,347

Ю.Ю. ВИХИРЕВ

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

ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АММИАКА НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ОТРАВЛЕНИИ

В статье объясняется механизм токсического действия аммиака и его особенности при остром и хроническом отравлении. Во время эксперимента было отмечено сильное влияние аммиака на ЦНС.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аммиак, отравления, эпилептоформные судороги, мыши, овцы.

Yu.Yu. VIKHIREV

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

THE AMMONIA'S TOXIC EFFECT ON THE ANIMAL'S ORGANISM IN CASE OF ACUTE AND CHRONIC INTOXICATION

This article is an attempt to explain the ammonia's toxic effect mechanism and its characteristics in case of acute and chronic intoxication. During the experiment the intense influence on the central nervous system was founded.

KEYWORDS: ammonia, intoxications, epileptiform fit, sheep, mice.

Отравления аммиаком имеют большое значение при промышленном содержании животных, так как все виды животных выделяют каждый день мочу, из которой в результате разложения мочевины образуется аммиак. Системы вентиляции не всегда способны удалить из помещения избыток аммиака, который при вдыхании вызывает отравления у животных [5].

К исследованию данной проблемы нас побудил случай, произошедший в Тверской области. Там произошло отравление овец аммиаком в результате нарушения технологии содержания: овцы содержались в помещении с бетонными полами на глубокой подстилке. Отсутствие удаления жидкости способствовало разложению мочевины и накоплению в атмосфере помещения аммиака.

Мочевина разлагается на аммиак и углекислый газ под действием фермента уреазы, который содержится в злаковых растениях, а также выделяется бактериями родов *Urobacteria* и *Helicobacter* [1].

Цель работы – изучение механизмов токсического действия аммиака при остром и хроническом отравлении.

Материалы и методы исследований. При изучении хронического токсического действия аммиака мы производили клиническое исследование поголовья и патологоанатомическое исследование трупов павших овец. Всего было клинически обследовано 19 овцематок и 34 ягненка в возрасте до 3 месяцев. В период исследований у овец брали смывы из носовой полости и с кожи для микробиологического исследования. С посевов получали мазки и окрашивали их по Грамму. Также мы произвели вскрытие трупов павших овец (7 гол.) с отбором патологического материала для гистологического и микробиологического исследований. Наличие аммиака в атмосфере овчарни определяли с помощью прибора УГ-2 по общепринятой методике.

Острое отравление моделировали на нелинейных белых самцах мышей массой 22-25 г путем помещения их



в атмосферу с превышением предельно допустимой концентрации аммиака в 5000 раз (расчетная концентрация 75 000 мг/м³). Далее производили вскрытие с последующим гистологическим исследованием внутренних органов мышей опытной и контрольной групп.

Результаты исследования. Нами установлено, что в овчарне содержание аммиака превышает допустимые нормы в среднем в 8 раз. При клиническом исследовании овцематок отмечали субфебрильную температуру (в среднем 39,8°), выпадение шерсти в области живота и подгрудка, а также хрипы в легких, изменение звука при аускультации, кашель. Молодняк отставал в росте и развитии (среднесуточный привес около 17 г, в среднем по хозяйству – 60-65 г). Ягнята выглядели ослабленными, неактивными и малоподвижными.

При патологоанатомическом вскрытии был поставлен диагноз: кахексия и катаральная бронхопневмония. При микробиологическом исследовании легких был выделен *Staphilococcus* sp. При его посеве на молочно-солевой агар он образовывал мелкие белые колонии (диаметром порядка 0,1 мм). Также проводили окраску мазков по Граму. Стафилококки окрашивались положительно и давали положительную реакцию с перекисью водорода. Стафилококки с аналогичными свойствами были выделены из смывов носовой полости и кожи у здоровых овец. Это заставляет нас говорить о том, что этот стафилококк является лишь условно-патогенным и не вызывает заболевания у неослабленных животных.

Полученные данные показывают, что при хроническом отравлении страдает в основном респираторная система. В первую очередь воспаляется слизистая оболочка верхних дыхательных путей, изменяется просвет дыхательной трубки и затрудняется дыхание. В результате выхода экссудата происходит разрушение клеток крови, лейкоцитов с выбросом медиаторов. Последние приводят к общим изменениям в организме животных. При гистологическом исследовании легких были обнаружены характерные изменения, свидетельствующие о катаральной бронхопневмонии (рис. 1).

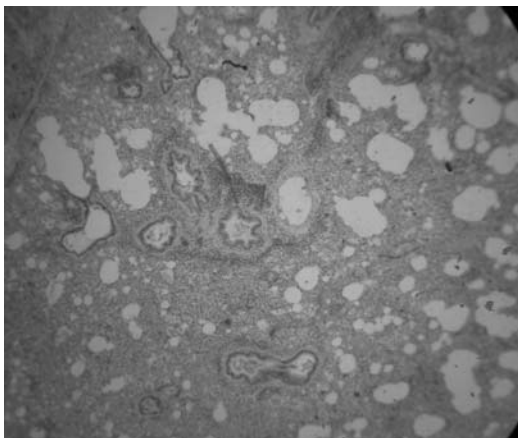


Рис. 1. Легкое овцы. Окраска гематоксилин-эозин, ув. Х400

Аммиак воздействует на слизистую оболочку легких раздражающе, снижая, таким образом, устойчивость их к микрофлоре и, возможно, изменяя активность сурфактанта. У отдельных животных также была обнаружена жировая дистрофия печени. На наш взгляд, это связано с тем, что усиливается функциональная нагрузка на печень, связанная с утилизацией попавшего в организм

аммиака. Попавший в организм аммиак в крови превращается путем гидролиза в ион аммония и вызывает алкалоз. Кроме того, в орнитинном цикле печени может утилизироваться ограниченное количество аммиака, поэтому образующийся в организме избыток иона аммония замедляет в соответствии с принципом Ле-Шателье процессы дезаминирования аминокислот, в частности, процесс образования альфа-кетоглаутарата, который является звеном цикла Кребса. Альтернативные пути синтеза не могут обеспечить достаточное его количество, поэтому цикл Кребса замедляется, и, как следствие этого, возникает истощение.

При остром отравлении у мышей наблюдали характерные симптомы: сначала, как при попадании в любую неблагоприятную атмосферу, у них возникает ориентировочный рефлекс (желание выбраться из банки); затем наступают характерные изменения со стороны центральной нервной системы, появляются тонико-клонические (эпилептоформные) судороги. Они симметричны по обеим сторонам тела, начинаются с головы, далее переходят на верхние конечности и генерализуются. Примерно через минуту судороги переходят в агонию и еще через 30-40 секунд мыши погибают. Патологоанатомические изменения наблюдали, в основном, во внутренних органах: сосуды брюшины гиперемизированы, печень сильно увеличена, на разрезе из нее выделяется кровь. Изменения в легких – незначительная гиперемия. При гистологическом исследовании в печени обнаруживается острая застойная гиперемия (рис. 2).



Рис. 2. Печень мыши. Окраска гематоксилин-эозин, ув. Х400

Проявляющиеся у мышей при отравлении аммиаком эпилептоформные судороги невозможно объяснить простой болью от химического ожога дыхательных путей аммиаком. На наш взгляд, причины этих судорог – истощение запасов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) в центральной нервной системе (ЦНС). Как известно, ГАМК является основным тормозным медиатором в ЦНС. Ее недостаток приводит к возбуждению ЦНС, которое проявляется моментально, так как ГАМК находится, в основном, в синапсах с быстродействующими рецепторами. ГАМК синтезируется путем декарбоксилирования L-глутамата; наличие ионов аммония не позволяет синтезироваться L-глутамату из L-глутамина и таким образом косвенно тормозит этот процесс. Недостаток ГАМК ведет к доминированию процессов возбуждения над процессами торможения в центральной нервной системе. Эти процессы



сходны с процессами, протекающими при эпилептическом припадке. Возникшее возбуждение впоследствии сменяется запредельным торможением из-за истощения запасов возбуждающих медиаторов. Этим объясняется смерть мыши и предшествующие ей судороги.

Заключение. Таким образом, токсическое действие при остром отравлении аммиаком у мышей вызвано поражением ЦНС и остро-застойными явлениями в печени. Хроническое отравление у овец проявляется токсической пневмонией, которая осложняется последующим присоединением условно-патогенной микрофлоры и снижением функции печени. Следовательно, содержание животных на глубокой подстилке в помещениях с гидроизолирующими полами нежелательно, так как это может приводить к значительному ухудшению их продуктивности и падежу.

УДК 619:615.9

М.В. МАЛИНОВСКАЯ

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

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ЛЕВАМИЗОЛА И ЕГО ТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ НА ОРГАНИЗМ ОВЕЦ

В статье изучены изменения в организме мышей и овец после введения левамизола и его сочетанное воздействие с тетравитом. Сделан вывод об усилении тетравитом токсичности левамизола.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: левамизол, тетравит, отравления, овца, белые мыши.

M.V. MALINOVSKAYA

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

THE RESEARCH OF THE LEVAMISOLE'S EFFECTS AND ITS TOXIC INFLUENCE ON THE SHEEP ORGANISM

In the article the changes in the sheep's and mice's organism in case of levamisole administration and combined influence on the organism of levamisole and tetravit are presented. We make a conclusion that tetravit intensify the levamisole's toxicity.

KEYWORDS: tetravit, levamisole, intoxication, sheep, white mice.

В литературе достаточно сведений о применении левамизола как антигельминтика и иммуностимулятора [1, 2]. В то же время не все механизмы его воздействия, особенно на животных, освещены достаточно полно. Левамизол (декарис) – антигельминтик широкого спектра нематоцидного действия на водной основе. Препарат оказывает на нематод холиномиметическое действие посредством возбуждения холинорецепторных структур в нервных ганглиях, а также ингибирует в митохондриях фумаратредуктазу и сукцинатдегидрогеназу, в результате чего у них нарушается утилизация глюкозы [3, 4].

Целью работы являлось изучение токсического воздействия левамизола на организм и патофизиологических изменений, происходящие при этом у животных.

Для реализации данной цели нами были поставлены следующие **задачи:**

1. Выявить на белых мышах и овцах негативное воздействие левамизола в больших дозах.

2. Выяснить механизмы сочетанного воздействия левамизола и тетравита.

Материалы и методы. Данную работу проводили в Тверской области, где занимаются разведением овец, и на базе кафедры патологической физиологии МГАВМиБ

Список литературы

1. Жаров А.В., Иванов И.В., Стрельников А.П. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных. М.: Колос, 2000.
2. Жуленко В.Н., Рабинович М.И., Таланов Г.А. // Ветеринарная токсикология. М.: Колос, 2001. С. 88-89, 145-149.
3. Марри Р., Гренер Д., Мейес П., Родуэлл В. // Биохимия человека. Т. 1. М.: Мир, 2004. С. 306-316, 354-355.
4. Савойский А. Г., Байматов В.Н., Мешков В.М. Патологическая физиология. М.: Колос, 2008. С. 381-409, 508-523.
5. Хмельницкий Г.А., Локтионов В.Н., Полоз Д.Д. // Ветеринарная токсикология. М.: Агропромиздат, 1987. С. 108-115, 298-299.

Контактная информация:

E-mail: next2@nxt.ru

Тел.: 8 926 896 98 52; 8 915 732 14 10



Мы решили смоделировать произошедшую ситуацию на самцах белых нелинейных мышей массой 19-21 г, для чего левамизол вводили совместно с тетравитом – витаминным препаратом на масляной основе, который применяют при авитаминозах и гиповитаминозах.

Собственные исследования. Опыт проводили на лабораторных мышах. Для мышей при подкожном введении LD_{50} левамизола 210 мг/кг, терапевтическая доза – 20 мг/кг.

Нами было сформировано восемь групп по 6 мышей в каждой.

Таблица

Схема проведения опыта на мышах

№ пп.	Введенные лекарства и дозы	Результаты опыта
1.	Левамизол в дозе 20 мг/кг	Без видимых изменений у всех животных
2.	Левамизол LD_{50}	Погибло 50% мышей после введения
3.	Искусственно ослабленные мыши (за счет недостаточного кормления), левамизол LD_{50}	Погибло 100% мышей после введения
4.	Левамизол LD_{50} и тетравит в терапевтической дозе	Погибло 100% мышей после введения
5.	Левамизол в дозе 100 мг/кг	Без видимых изменений у всех животных
6.	Левамизол в дозе 100 мг/кг и тетравит в терапевтической дозе	Погибло 100% мышей после введения
7.	Тетравит в терапевтической дозе, двойной и тройной дозе	Группа для проверки качества тетравита. Без видимых изменений у всех животных
8.	Физиологический раствор подкожно (0,5 мл) и внутримышечно (0,1 мл)	Без видимых изменений у всех животных

Полученные данные показывают, что левамизол у мышей вызывает гибель до 50% особей после введения десятикратной дозы. При введении пятикратной дозы изменений у мышей не наблюдали. Однако при одновременном введении пятикратной дозы левамизола и терапевтической дозы тетравита мыши гибнут в течение нескольких минут. Причем ослабленные животные более чувствительны к таким введениям.

После введения токсических доз левамизола и высоких доз левамизола в сочетании с тетравитом наблюдали следующие патофизиологические изменения у мышей: одышка, возбуждение, обильная дефекация, атаксия, тремор, затем судороги, которые начинались кивательными движениями головы с переходом на шею, грудные конечности и грудь. Похожую картину, по словам чабанов, наблюдали у овец.

При этом, если время от введения препарата до смерти у мышей с LD_{50} левамизола составляло около 30-50 мин., то время смерти мышей, которым был также добавлен тетравит, составляло 4-10 минут.

При патологоанатомическом вскрытии у мышей контрольной группы все органы находились в норме. У мы-

шей, погибших от LD_{50} левамизола и мышей, погибших от LD_{50} левамизола с добавлением тетравита патологоанатомическая картина была аналогичной выявленной при вскрытии ягнят. Полученные данные свидетельствуют о том, что тетравит усиливает токсичность левамизола.

Мы можем предположить механизм совместного действия левамизола и тетравита на организм. Липофильные соединения усваиваются печенью быстрее и активнее, чем водорастворимые. Но компенсаторная и детоксикационная функции печени ограничены. При воздействии на нее тетравита компенсации не хватает, чтобы нейтрализовать дополнительно введенный левамизол на водной основе, который начинает активно проходить сквозь печень и циркулирует в крови. Резкий расход гликогена печени приводит к углеводной дистрофии. Из-за уменьшенного содержания глюкозы и гликогена в организме вследствие недостаточного кормления ослабленные животные погибают при меньшей дозе левамизола. Из-за токсического воздействия левамизола на желудочно-кишечный тракт происходит его атония; как следствие, накопившиеся продукты брожения и гниения усиливают интоксикацию организма и токсическое влияние на печень. Изменившаяся проницаемость сосудов приводит к кровоизлияниям во всех внутренних органах.

Заключение.

Левамизол имеет высокую токсичность, у физически ослабленных мышей LD_{50} левамизола вызывает 100%-ную гибель.

При одновременном введении левамизола в дозе 100 мг/кг и тетравита в терапевтической дозе смертность мышей достигает 100%.

Левамизол необходимо применять однократно, подкожно (мелкому рогатому скоту можно внутримышечно) в дозе 7,5 мг действующего вещества на 1 кг массы животного. Витаминизация должна проводиться не раньше, чем через неделю после дегельминтизации животных. Предлагаемая схема предупреждает возникновение токсического эффекта. Желательно совсем исключить применение гепатотоксических веществ совместно с липофильными.

В медицинских инструкциях по применению левамизола представлено большое количество противопоказаний к его использованию (печеночная, почечная, цереброваскулярная недостаточность и т.д.) [5]. Необходимо учитывать эти противопоказания в ветеринарной практике.

Список литературы

1. Архипов И.А. Особенности применения и дозирования антигельминтиков на разных видах животных: Тр. Всерос. ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина. Т. 38. М., 2002.
2. Архипов И.А. Побочные действия антигельминтиков и эндектоцидов и пути их предотвращения // Ветеринария, 1999. № 12. С. 24.
3. Сидоркин В.А., Новикова С.В., Баринев Н.Д. Нематоцидная активность левамизола при аскаридозе свиней // Ветеринария, 2001. № 5. С. 13.
4. Инструкция по применению левамизола. Регистрационный номер ПВР-2-5.0/00525. Рекомендовано к регистрации в Российской Федерации ФГУ «ВГНКИ».
5. Инструкция по применению левамизола. Регистрационный номер ПН014042/01, ОАО «Гедеон Рихтер», Венгрия.

Контактная информация:
malinovskaya_mar@mail.ru, 89168081485



СОКРАТИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА ТЕЛЯТ

В систолу укорочение поперечного диаметра левого желудочка сердца телят в большей степени определяется амплитудой движения и сократимостью миокарда задней стенки желудочка, а не межжелудочковой перегородки. В течение сердечного цикла наибольшее уменьшение поперечного диаметра и утолщение стенок левого желудочка сердца у телят крупного рогатого скота выявлено на уровне папиллярных мышц, по сравнению с базальным и верхушечным.

Ключевые слова: сократимость миокарда, левый желудочек, эхокардиография.

E.V. BARTUSEVICH, I.M. ROSHCHEVSKAYA

The Comparative Cardiology Laboratory of Komi Science Center, Ural Division, Russian Academy of Science, Syktyvkar

CONTRACTILITY OF THE FUNCTIONAL OF THE LEFT VENTRICLE IN CALF

In systole the shortening of the left ventricular transversal diameter has been defined to a larger degree by amplitude of motion and left posterior wall contractility of the myocardium than that of interventricular septum. During the cardiac cycle in the left ventricle in calf the greatest reduction of the transversal diameter and the greatest thickening of walls were observed at the level of papillary muscles, in comparison with the base and the apex.

KEYWORDS: contractility of the myocardium, left ventricle, echocardiography.

Введение. Сократительная функция сердца определяется комплексом физиологических процессов и свойств миокарда. Миокард имеет сложную трехмерную структуру [1]. Расположение волокон Пуркинье в миокардиальной стенке у копытных животных от эндокарда к эпикарду [2] обеспечивает полифокальность деполяризации желудочков сердца [3]. Миокард характеризуется неравномерной динамикой сокращения и движения стенок [4]. Региональная неоднородность миокарда приводит к необходимости анализа динамики движения и сократительной способности разных участков стенки левого желудочка сердца.

Цель данной работы – эхокардиографическое исследование сократимости миокарда левого желудочка сердца молодняка крупного рогатого скота.

Исследования выполнены при поддержке научной школы академика М.П. Рощевского; Программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине».

Материал и методы. Исследование морфофункциональных параметров левого желудочка у 16-дневных телят Холмогорской породы ($n=11$, весом $47,1 \pm 3$ кг) выполняли на ультразвуковом аппарате SonoDiagnost 360 (Германия) с помощью кардиологического секторного датчика 3,5-5 МГц. Измерение морфофункциональных параметров проводили в трех параллельных плоскостях в поперечном направлении левого желудочка: на уровнях митрального клапана (базальном), папиллярных мышц (среднем), верхушки (верхушечном) и в продольном. Вычислили индекс сократимости миокарда задней стенки и межжелудочковой перегородки.

Результаты. Эхокардиографические исследования показали, что при сокращении поперечный диаметр левого желудочка сердца телят на уровне митрального клапана уменьшается на $31 \pm 7\%$, папиллярных мышц – на $34 \pm 7\%$, верхушки – на $30 \pm 7\%$. Степень укорочения продольного диаметра левого желудочка телят составляет $17 \pm 6\%$. В систолу поперечный диаметр левого желудочка на трех уровнях измерения и продольный диаметр достоверно уменьшаются ($p < 0,05$) по сравнению с диастолой.

В систолу толщина стенок левого желудочка увеличивается за счет сокращения волокон миокарда и зависит от структурной организации полости, особенностей архитектоники волокон рабочего миокарда [5]. Степень систолического утолщения задней стенки левого желудочка у телят на уровне митрального клапана составляет $27 \pm 8\%$, папиллярных мышц – $30 \pm 7\%$, верхушки – $24 \pm 2\%$ по отношению к диастоле. Толщина межжелудочковой перегородки у телят в систолу увеличивается на уровне митрального клапана на $28 \pm 10\%$, папиллярных мышц и верхушки – на $32 \pm 4\%$ и $23 \pm 3\%$ соответственно.

Обсуждение. Изменение размеров поперечного диаметра левого желудочка зависит от степени сокращения миокарда и амплитуды движения его стенок. Для оценки вклада экскурсии межжелудочковой перегородки и задней стенки левого желудочка в динамику поперечных диаметров полости желудочка в процессе сокращения. Нами показано (табл.), что систолическая экскурсия эндокардиальной поверхности задней стенки левого желудочка достоверно больше, чем межжелудочковой перегородки на исследованных уровнях, что, возможно, объясняется различиями толщин стенок в диастолу и участием межжелудочковой перегородки в выталкивании крови левого и правого желудочков. Экскурсия стенок левого желудочка в базальных отделах в два раза больше, чем подвижность стенок желудочка в области верхушки, что, вероятно, связано с участием задней стенки и межжелудочковой перегородки в изгнании крови из желудочков в аорту.

Индекс сократимости миокарда задней стенки левого желудочка у телят по средним данным равен 44% , а межжелудочковой перегородки – 29% . В систолу укорочение поперечного диаметра левого желудочка у телят в большей степени определяется амплитудой движения и сократимостью миокарда задней стенки желудочка, а не межжелудочковой перегородки.

Показатель фракции выброса, характеризующий общую сократимость миокарда у телят составляет $62 \pm 5\%$. Ранее нами показано, что сократимость миокарда у сви-



ней пород Ландрас и Крупная белая (весом 25-30 кг) составляет 53±9% [6]. Общая сократительная способность миокарда у телят выше по сравнению со свиньями.

Систолическая экскурсия эндокардиальной поверхности стенок левого желудочка (мм) у телят на разных уровнях измерения

Уровни измерения в поперечном направлении левого желудочка	Систолическая экскурсия эндокардиальной поверхности	
	задней стенки левого желудочка	межжелудочковой перегородки
Базальный	8,2±1,9 *, [○]	6,0±1,8 *, [●]
Средний	6,8±0,7 *	4,4±0,6 *
Верхушечный	4,9±0,8 *, [○]	2,8±0,6 *, [●]

Данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение.

* – различия достоверны (p<0,05) между систолической экскурсией задней стенки левого желудочка и межжелудочковой перегородки;

○ – различия достоверны (p<0,5) между систолической экскурсией задней стенки левого желудочка на базальном и верхушечном уровнях;

● – различия достоверны (p<0,05) между систолической экскурсией межжелудочковой перегородки на базальном и верхушечном уровнях.

Заключение. Эхокардиографические исследования сердца телят крупного рогатого скота показали, что наибольшее уменьшение поперечного диаметра и утолщение стенок левого желудочка в систолу выявлено на уровне папиллярных мышц по сравнению с базальным и верхушечным.

УДК 612.172.4

А.С. ГУЛЯЕВА, И.М. РОЩЕВСКАЯ

Лаборатория сравнительной кардиологии Коми, НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар

ФОРМИРОВАНИЕ ОБЛАСТЕЙ НАЧАЛЬНОЙ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ В ЛЕВОМ ЖЕЛУДОЧКЕ СЕРДЦА СВИНЬИ

Последовательность деполяризации была изучена методом многоканальной синхронной электрокардиографии. Зоны ранней деполяризации сформированы в левом желудочке в средней части межжелудочковой перегородки и под основой предшествующих и следующих папиллярных мускулов. Тип «вспышки» активации типичен для желудочков сердца свиньи.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: деполяризация, левый желудочек, свинья.

A.S. GULYAEVA, I.M. ROSHCHEVSKAYA

Laboratory of Comparative Cardiology, Komi Science Centre, Ural Division, RAS, Syktyvkar

THE FORMATION OF AREAS OF THE EARLY DEPOLARIZATION IN THE LEFT VENTRICLE OF THE PIG'S HEART

The sequence of depolarization was studied by a method of multi-channel synchronous cardioelectropography. The zones of early depolarization are formed in the left ventricle in the medial part of the interventricular septum and under the base of anterior and posterior papillary muscles. The «flash» type of activation is typical of ventricles of the pig's heart. In free walls of the left ventricle and the interventricular septum excitation wave fronts differing in time and direction are revealed.

KEYWORDS: depolarization, left ventricle, pig.

Сравнительно-физиологические исследования позволили выявить тип деполяризации желудочков сердца копытных животных, отличный от других теплокровных животных и человека, заключающийся в практически одновременном возбуждении обширных участков правого и левого желудочков сердца [1]. Полифокальный

характер распространения волны возбуждения в желудочках сердца копытных связан с особенностями пространственной организации терминалей проводящей системы [2]. Волокна Пуркинье в желудочках сердца овцы [3, 4], северного оленя [5], быка [6] многочисленны, расположены от субэндокарда до субэпикарда и образуют

Список литературы

1. The three-dimensional arrangement of the myocytes in the ventricular walls // J. Clinical Anatomy, 2009. Vol. 22. P. 64-76.
2. Initial phase of ventricular systole: asynchronous contraction // Am. J. Physiol., 1956. Vol. 184. P. 188-189.
3. The conduction system of the swine heart // Chest., 1991. Vol. 100. P. 207-212.
4. Униполярные электрокардиограммы миокарда из полостей сердца, магистральных сосудов и от поверхности тела у собак кошек и поросят // Физиологические основы электрокардиографии животных / Под ред. И.А. Барышникова, М.П. Рощевского, Н.А. Судакова, П.В. Филатова. М.-Л.: Наука, 1965. С. 5-18.
5. Macro design, structure and mechanics of the left ventricle // J. Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2000. Vol. 119. № 5. . 1053-1077.
6. Геометрия левого желудочка и сократимость миокарда у приматов, копытных и зайцеобразных: Докл. академии наук, 2008. Т. 422. № 5. С. 708-709.

Контактная информация:
e-mail: bart_lena@mail.ru

сетчатую структуру. Для желудочков сердца копытных животных характерен «вспышечный» тип деполяризации, однако расположение очагов раннего возбуждения у разных видов отличается [7, 8].

Цель работы: определение местоположения и времени формирования зон начальной деполяризации в левом желудочке сердца свиньи.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 09-04-92011-ННС_а, Программой РАН «Фундаментальные науки – медицине».

Материалы и методы исследования.

Последовательность деполяризации левого желудочка и межжелудочковой перегородки исследовали у свиней пород Ландрас и Крупная белая (n=10, в возрасте трех месяцев), наркотизированных уретаном (1,5 г/кг, в/м). Распространение волны возбуждения в интрамуральных слоях миокарда при синусно-предсердном ритме изучали методом синхронной многоканальной кардиоэлектротопографии с помощью мультиполярных игольчатых электродов, которые вводили в миокард желудочков в пяти условных плоскостях, перпендикулярных продольной оси сердца (рис. 1). Регистрацию интрамуральных униполярных электрограмм (ЭГ) проводили синхронно и с ЭКГ во втором сагиттальном отведении по Рощевскому [2]. Время прихода волны возбуждения приведено относительно пика зубца S_{IIIS} . Момент времени до S-пика указывается со знаком минус.

волны возбуждения – от субэндокарда к субэпикарду левого желудочка и от субэндокарда межжелудочковой перегородки к ее интрамуральным слоям.

В субэндокардиальных слоях свободной стенки левого желудочка (рис. 2, иглы 40, 44) в области начальной деполяризации регистрируются глубокие отрицательные комплексы типа QS вплоть до субэпикардиальных слоев. Для униполярных ЭГ, регистрируемых в субэндокардиальных слоях межжелудочковой перегородки, характерен отрицательный комплекс QS, в интрамуральных и субэпикардиальных слоях регистрируется зубец r, и ЭГ приобретает форму rS (рис. 2, игла 39).

Многочисленные очаги возбуждения появляются через $5,44 \pm 1,45$ мс от момента формирования начальных зон возбуждения. Они расположены в субэпикардиальных и интрамуральных слоях свободной стенки левого желудочка и в межжелудочковой перегородке с вентральной и дорсальной стороны. На субэпикарде вентральной стороны левого желудочка через $7,04 \pm 1,55$ мс от формирования зон начальной деполяризации наблюдается прорыв волны возбуждения. В свободных стенках левого желудочка и межжелудочковой перегородке наблюдаются различающиеся по времени возникновения и направлению фронты деполяризации: от субэндокарда к интрамуральным слоям и от интрамуральных к субэндокарду и к субэпикарду (рис. 2).

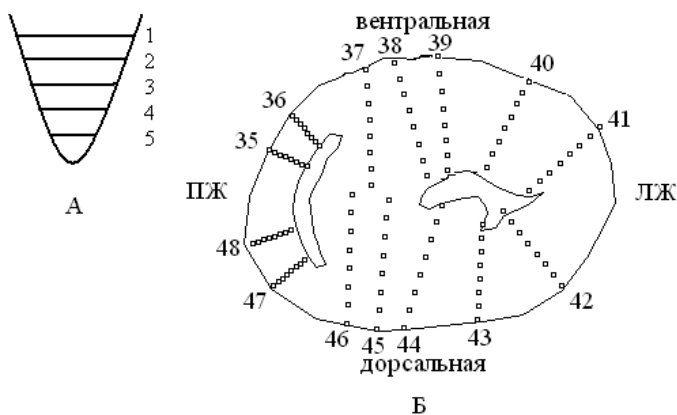


Рис. 1. Схема расположения интрамуральных игольчатых электродов в области основания папиллярных мышц левого желудочка сердца свиньи (плоскость IV среза).

А – плоскости введения электродов,
Б – расположение многоканальных игл-электродов (35-48) в плоскости четвертого среза

Данные в работе представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратичной ошибки.

Результаты исследования. Исследование хроно-топографии волны возбуждения в желудочках сердца свиньи показало, что зоны начальной деполяризации формируются в левом желудочке, в области средней части межжелудочковой перегородки и под основанием передней и задней папиллярных мышц за $24,25 \pm 1,82$ мс до пика зубца S_{IIIS} . На начальных этапах деполяризации наблюдается поперечное направление распространения

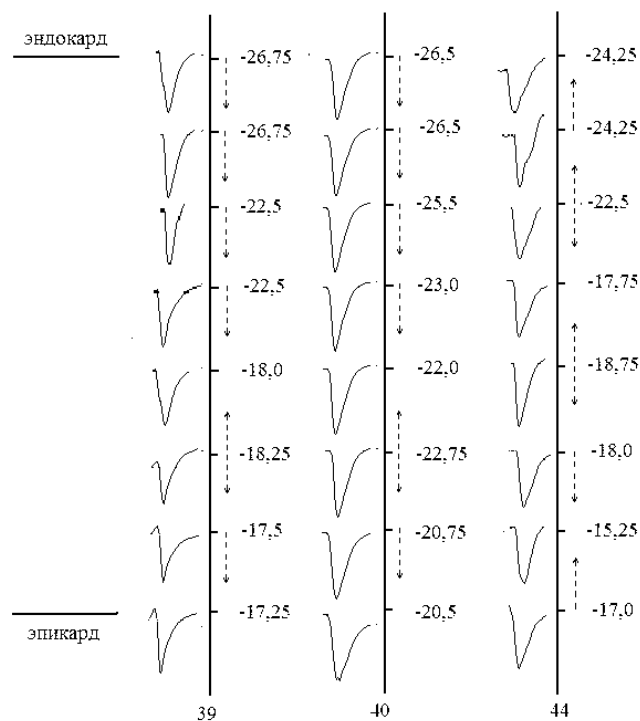


Рис. 2. Распространение волны возбуждения и формы электрограмм в свободной стенке левого желудочка на уровне основания передней (игла №40) и задней папиллярных мышц (игла №44) и межжелудочковой перегородке (игла №39).

39, 40, 44 – номера интрамуральных игл-электродов в соответствии с рис. 1Б.

Слева приведены электрограммы в соответствующих точках отведения, справа – время прихода волны возбуждения в точку отведения относительно пика зубца



S_{JIS} стрелкой обозначено направление распространения волны возбуждения.

Через $19,65 \pm 6,44$ мс после начала возбуждения полностью деполяризована медиальная часть левого желудочка, через $33,72 \pm 3,51$ мс – весь левый желудочек. Длительность деполяризации миокарда обоих желудочков у свиней составляет 38 ± 1 мс.

Обсуждение результатов. Исследование процесса деполяризации интрамуральных слоев желудочков сердца свиньи показало, что в субэндокардиальных и вплоть до субэпикардиальных слоев медиальной части свободной стенки левого желудочка и межжелудочковой перегородки регистрируются в основном отрицательные униполярные ЭГ. Наличие отрицательных комплексов QS свидетельствует о том, что области регистрируемых ЭГ расположены вблизи зон раннего возбуждения [9].

Охват возбуждением интрамуральных слоев миокарда желудочков сердца копытных животных носит полифокальный характер. Однако наблюдаются межвидовые различия в расположении областей начальной деполяризации. У овец [8] на начальных этапах деполяризации миокарда активируется основание папиллярных мышц левого желудочка. Межжелудочковая перегородка в этот период времени не возбуждена. У северного оленя [7] области ранней деполяризации выявлены в средней части левой стороны межжелудочковой перегородки, в верхушечной части правой стороны перегородки. Одновременно зоны деполяризации наблюдаются под основанием обеих папиллярных мышц левого желудочка и под папиллярной мышцей свободной стенки правого желудочка. Нашими исследованиями показано, что у свиньи зоны ранней деполяризации формируются в медиальной части левой стороны межжелудочковой перегородки и под основанием обоих папиллярных мышц левого желудочка. В левом желудочке сердца свиньи при синусно-предсердном ритме методом эндокардиального картирования [10] показано, что зона начальной деполяризации расположена в субэндокардиальной области межжелудочковой перегородки.

Особенности расположения зон начальной активации у разных видов копытных животных могут быть обусловлены распределением сердечных проводящих миоцитов в миокарде желудочков. Детальная реконструкция сети волокон Пуркинье проведена в стенках желудочков сердца северного оленя [2]. Показано, что в области верхушки сердца, в субэндокардиальном слое области основания папиллярных мышц свободных стенок левого и правого желудочков обнаружены проводящие миоциты довольно крупного диаметра, в миокарде межжелудочковой перегородки волокна Пуркинье преимущественно расположены в центральных слоях [5], что соответствует областям ранней деполяризации.

На начальных этапах деполяризации левого желудочка сердца свиньи выявлено три фронта волны возбуждения в средней части межжелудочковой перегородки и в основании передней и задней папиллярных мышц. Волна деполяризации распространяется от этих областей поперечно, по направлению к внешней границе желудочка. При появлении многочисленных очагов электронегативности происходит быстрая деполяризация медиальной части левого желудочка.

Заключение.

Последовательность деполяризации левого желудочка сердца свиньи имеет сложный характер. После формирования зон начальной деполяризации в толще миокардиальной стенки появляются многочисленные очаги возбуждения. Распространение волны деполяризации от множественных очагов способствует быстрому возбуждению всей массы миокарда.

Список литературы

1. Рощевский М.П. Электрическая активность сердца и методы съемки электрокардиограмм у крупного рогатого скота. Свердловск: Изд-во Урал НИИСХ и УрГУ, 1958. 78с.
2. Рощевский М.П. Электрокардиология копытных животных. Л.: Наука, 1978. 168 с.
3. Ansari A., Ho S.Y., Anderson R.H. Distribution of the Purkinje fibers in the sheep heart // Anat. Rec., 1999. Vol. 254. P. 92-97.
4. Ryu S., Yamamoto S., Andersen C.R. et al. Intramural Purkinje cell network of sheep ventricles as the terminal pathway of conduction system // Anat. Rec., 2009. Vol. 292. P. 12-22.
5. Ключина И.В. Распределение сердечных проводящих миоцитов и электрофизиологические особенности миокарда птиц и копытных животных // Сравнительная электрокардиология. Л.: Наука, 1981. С. 128-131.
6. Oosthoek P.W., Viragh S., Lamers W.H., Moorman A.F.M. Immunohistochemical delineation of the conduction system II: the atrioventricular node and Purkinje fibers // Circ. Res., 1993. Vol. 73. P. 482-491.
7. Рощевский М.П., Шмаков Д.Н. Хронотопография деполяризации желудочков сердца северных оленей // Физиол. журн. СССР, 1977. Т. 63. №8. С. 1144-1152.
8. Рощевская И.М. Кардиоэлектрическое поле теплокровных животных и человека. СПб: Наука, 2008. 250 с.
9. Гофман Б., Крейнфилд П. Электрофизиология сердца. М.: ИЛ, 1962. 390 с.
10. Gepstein L., Hayam G., Ben-Haim S.A. Activation-repolarization coupling in the normal swine endocardium // Circulation, 1997. Vol. 96. P. 4036-4043.

Контактная информация:
a.gulyaeva@cardio.komisc.ru



ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРАСНОЙ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ

Приведены результаты анализа возрастных изменений красной крови крупного рогатого скота симментальской и холмогорской пород, разводимого в условиях Якутии. Установлено, что по мере их роста наблюдается тенденция снижения эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, в то время как степень насыщения эритроцитов гемоглобином с возрастом повышается. Выявлено, что до годовалого возраста существенной разницы в показателях крови между породами нет, затем постепенно происходит дифференциация, обусловленная, вероятно, уровнем энергетических затрат организма. В условиях Якутии симментальская порода проявляет относительно стабильные гематологические показатели, что может служить косвенным аргументом относительно хороших адаптивных качеств скота данной породы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: крупный рогатый скот, параметры крови, эритроциты, гематокрит, гемоглобин, возраст, условия Якутии.

L.G. DYDAEVA, V.I. MAXIMOV

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

AGE OF CHANGE OF PARAMETERS OF RED BLOOD OF THE LARGE CATTLE IN CONDITIONS OF YAKUTIA

Results of analysis of age changes of red blood of the large cattle of Simmental and Kholmogor breeds, cultivated in conditions of Yakutia show, that in process of growth of animals the tendency of decrease in erythrocytes, hemoglobin, hematocrit while saturation rate of erythrocytes a haemoglobin with the years raises is observed. Simmental breed shows rather stable hematological parameters that can serve as indirect argument concerning good adaptive qualities of cattle of the given breed.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: large cattle, parameters of blood, erythrocytes, hematocrit, hemoglobin, age, conditions of Yakutia.

Количественный состав и морфология клеток периферической крови в норме характеризуются достаточно высокой стабильностью, связанной с постоянством действия регуляторных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза [2, 6].

В литературе накоплено множество разнообразных сведений о влиянии географических, климатических и экологических различий территорий на нормативы крови животных [1, 3, 4, 5].

В условиях Якутии с её холодным климатом, длительным стойловым содержанием, скудным и однообразным рационом кормления сельскохозяйственных животных [7] представляет интерес изучение состава крови крупного рогатого скота в возрастном аспекте.

С учетом природно-климатических условий в республике применяются стойловая (в зимний период) и лагерно-пастбищная (летняя) системы содержания скота.

Стойловое содержание животных в зимний период имеет среднюю продолжительность в 275 дней. Используется в основном привязной способ содержания скота.

Материалы и методы. Исследовали наиболее распространенные в Якутии симментальский и холмогорский породы крупного рогатого скота. Основной массив разводимого скота Якутии получен длительной адаптацией привозного скота – холмогорской породы с 1927 г. и симментальской с 1937 г. Симментальская порода районирована в заречных, вилюйских и северных группах

улусов, а холмогорская – вблизи городов и густонаселенных приленских и некоторых промышленных северных улусах республики.

Группы животных сформировали в количестве по 45 гол. в каждой возрастной группе, а в возрастной группе старше 13 лет – по 25 гол. Обследованием подбирали клинически здоровых животных в хозяйствах Амгинского, Верхоянского, Верхневилюйского, Вилюйского, Мегино-Кангаласского, Нюрбинского, Оймяконского, Сунтарского, Чурапчинского, Якутского улусов (районов).

Исследовали периферическую кровь крупного рогатого скота в количестве 680 проб по следующим параметрам: количество эритроцитов (RBS), гематокрит (HT), содержание гемоглобина (Hb), средний корпускулярный объем эритроцитов (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC).

Кровь для исследований отбирали до утреннего кормления из яремной вены в специальные контейнеры с распыленным консервантом (ЭДТА). Доставка проб осуществлялась в течение одних суток.

Измерения проводили автоматическим гематологическим анализатором Cobas Minos Stex (проточный цитометр). Производительность анализатора 80 анализов в 1 час, объем исследуемой пробы 12 мкл. Данный анализатор считает клетки путем пропускания их через апертуру малого размера (микроотверстие) и определения изменений импеданса (сопротивления тока в цепи),



Возрастная динамика показателей красной крови у скота симментальской породы в условиях Якутии (n=340)

Группы	Возраст	Показатели и единицы измерения					
		Эритроциты	Гемоглобин	Гематокрит	Объем эритроцита	Средн. содер. гемоглоб. в эритроците	Средн. конц. гемоглоб. в эритроците
		млн/мкл.	г/л	%	мкм ³	пг	г/л
1	Новорожденные	7,13±0,11	110,4±0,89	36,5±0,73	51,1±0,49	15,6±0,21	306,4±5,24
2	1 месяц	6,33±0,10	102,7±1,22	32,8±0,40	52,0±0,53	16,3±0,25	314,5±4,16
3	3 месяца	6,57±0,09	99,9±1,14	34,7±0,51	52,9±0,60	15,3±0,29	290,5±4,97
4	6 месяцев	5,82±0,08	98,5±1,17	31,3±0,39	54,0±0,69	17,0±0,20	316,5±4,38
5	1 год	5,70±0,09	93,5±1,27	30,8±0,33	54,5±0,89	16,5±0,23	304,6±4,16
6	3 года	5,44±0,08	95,0±1,05	28,7±0,36	53,0±0,61	17,6±0,29	332,8±4,74
7	8 лет	5,61±0,07	99,9±1,25	29,5±0,31	52,8±0,50	18,0±0,34	340,2±5,89
8	старше 13 лет	5,05±0,13	87,2±1,32	26,9±1,17	53,2±1,61	17,8±0,53	348,7±15,5
В среднем		6,01±0,13	99,0±1,46	31,7±0,68	52,9±0,75	16,7±0,32	317,6±6,71

вызванных прохождением клетки. В измерительной камере по обе стороны от апертуры находятся электроды, через которые проходит постоянный электрический ток, и в тот момент, когда клетка проходит через апертуру, сопротивление в электрической цепи резко возрастает. Пропуская через апертуру строго определенное количество клеток (не менее 10⁴) и регистрируя амплитуду импульсов, осуществляли подсчет количества клеток в 1 мкл крови и оценивали размер каждой клетки.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием стандартного пакета прикладной программы Office Excel 2007. Средние показатели получили выведением средних арифметических значений, а пределы колебаний – по стандартному отклонению.

Результаты исследований. Анализ полученных данных показал, что с возрастом у животных происходит достоверное снижение количества эритроцитов и гемоглобина (табл. 1 и 2).

Так, с момента рождения до 13 лет и старше (табл. 1) в крови крупного рогатого скота симментальской породы количество эритроцитов снижается в 1,4 раза (с 7,13±0,11 до 5,05±0,13 млн/мкл., $p < 0,001$), гемоглобина – в 1,3 раза (с 110,4±0,89 до 87,2±1,32 г/л, $p < 0,001$), гематокрита – в 1,4 раза (с 36,5±0,73 до 26,9±1,17%, $p < 0,001$).

Но вместе с тем отмечается увеличение с возрастом средней концентрации гемоглобина в эритроцитах – с 306,4±5,24 до 348,7±15,5 г/л ($p < 0,001$).

Менее подвержен возрастным колебаниям объем эритроцитов, хотя имел место незначительный рост – с 51,1±0,49 до 53,2±1,61 ($p < 0,05$).

Аналогичные исследования проведены и у скота холмогорской породы. При этом до годовалого возраста между двумя исследуемыми группами (симментальской и холмогорской) значительной разницы в показателях красной крови не установлено. В возрастном аспекте наблюдалась та же тенденция, что и у симменталов, с той лишь разницей, что в продуктивный период (3 и 8 лет холмогорская порода отличалась относительно более высоким содержанием гемоглобина, объемом эритроцитов (табл. 2).

Данные, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что в показателях крови наиболее высокая достоверная разница между холмогорской и симментальской породами наблюдалась в 8-летнем возрасте ($p < 0,001$) (рис. 1).

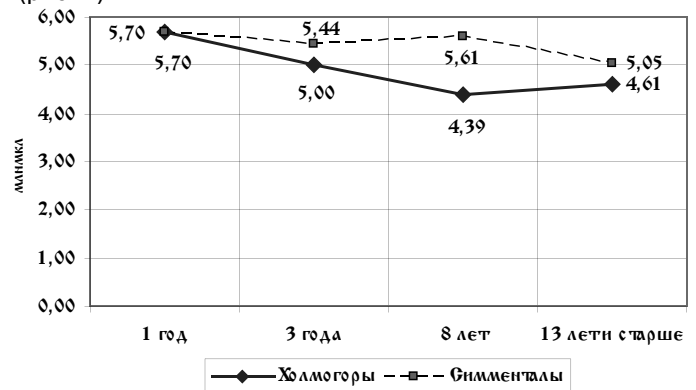


Рис. 1. Содержание эритроцитов в крови холмогорской и симментальской пород скота в зависимости от возраста

Среднее корпускулярное содержание гемоглобина в эритроцитах у холмогорского скота в этот период было значительно выше – 24,5±0,40 пг, чем у симментальского – 18,0±0,34 пг ($p < 0,001$) (рис. 2).

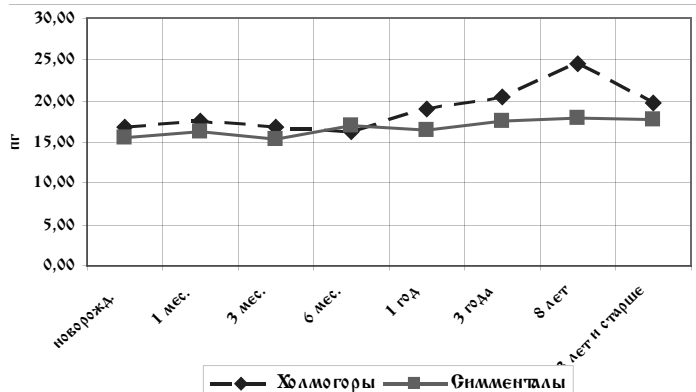


Рис. 2. Возрастная динамика содержания гемоглобина в эритроцитах холмогорской и симментальской пород скота



Возрастная динамика показателей красной крови у скота холмогорской породы в условиях Якутии (n=340)

Группы	Возраст	Показатели и единицы измерения					
		Эритроциты	Гемоглобин	Гематокрит	Объем эритроцита	Средн. содер. гемоглоб. в эритроците	Средн. конц. гемоглоб. в эритроците
		млн/мкл.	г/л	%	мкм ³	пг	г/л
1	Новорожденные	6,81±0,08	114,9±1,34	35,9±0,49	53,8±0,57	16,9±0,22	321,2±2,88
2	1 месяц	6,38±0,09	111,0±1,64	34,2±0,53	53,8±0,84	17,5±0,36	325,4±3,61
3	3 месяца	6,10±0,07	101,9±1,01	31,4±0,33	52,0±0,61	16,9±0,61	321,6±2,87
4	6 месяцев	6,64±0,08	107,0±0,74	33,4±0,21	50,4±0,60	16,2±0,24	324,7±2,44
5	1 год	5,70±0,09	107,6±1,09	30,8±0,33	54,5±0,89	19,1±0,38	351,4±4,97
6	3 года	5,00±0,06	102,1±0,96	28,7±0,36	57,2±0,77	20,4±0,35	358,1±5,57
7	8 лет	4,39±0,06	106,7±0,93	27,1±0,26	61,9±0,69	24,5±0,40	395,4±5,69
8	старше 13 лет	4,61±0,11	89,0±1,19	27,1±0,54	59,0±0,60	19,8±0,53	334,7±8,20
В среднем		5,70±0,27	105,0±1,95	31,1±0,93	55,3±1,07	18,9±0,72	341,6±7,09

Таким образом, по мере роста крупного рогатого скота симментальской и холмогорской пород в условиях Якутии наблюдается тенденция снижения таких показателей красной крови как эритроциты, гемоглобин, гематокрит, в то время как степень насыщения эритроцитов гемоглобином с возрастом повышается. Объем же эритроцитов претерпевает незначительные изменения. При сравнении скота мясомолочной (симментальский) и молочной (холмогорский) пород выявлено, что до годовалого возраста существенной разницы в показателях крови между ними нет, затем постепенно происходит дифференциация, обусловленная, вероятно, уровнем энергетических затрат организма.

Выявлено, что в условиях Якутии симментальская порода крупного рогатого скота проявляет относительно стабильные гематологические показатели, что может служить косвенным аргументом относительно хороших адаптивных качеств скота данной породы.

Список литературы

1. Донник И.М., Верещак Н.А., Шкуратова И.А. Иммунологическая характеристика крупного рогатого скота Уральского региона // Современ. проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных и птиц: Сб. научн. трудов ведущих ученых России и Зарубежья. Вып. 3. Екатеринбург, 2010. С. 445-448.
2. Исследование системы крови в клинической практике / Под ред. Г.И. Козинца и В.А. Макарова. М.: Триада-Х, 1997. 480 с.
3. Кантемиров С.О. Адаптационные и продуктивные особенности коров ярославской породы в условиях Северного Кавказа: Автореф. ... канд. с.-х. наук. Черкесск, 2008. 21 с.
4. Корякина Л.П. Показатели периферической крови крупного рогатого скота Центральной Якутии // Достижения науки и техники АПК, 2009. №1. С. 32-34.
5. Павлова А.И. Проблема адаптации крупного рогатого скота в Якутии (экологические, эпизоотологические и иммунологические аспекты): Автореф. ... докт. вет. наук. Якутск, 1997. 3с.
6. Руководство по гистологии. В 2 т. / Под ред. Р.К. Данилова и В.Л. Быкова. СПб: СпецЛит, 2001. Т. 1: Общая гистология (учение о тканях). 495 с.
7. Чугунов А.В., Павлова А.И. Охрана генофонда местных пород животных Крайнего Севера. М.: КолосС, 2003. 110 с.

Контактная информация:
Максимов В.И. Тел.: 377-63-31.

**ИССЛЕДОВАНИЯ О.Д. УОЛЛЕРА В ОБЛАСТИ ЭЛЕКТРОКАРДИОЛОГИИ**

В статье анализируются научные работы О.Д. Уоллера в области электрокардиологии. Выделены основные достижения, которые оказали заметное влияние на развитие современной электрокардиологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: исследования Уоллера, электрокардиограмма, электрическая активность сердца, капиллярный электрометр Липпманна, отведение.

A.N. IVANOVA, M.P. ROSHCHEVSKY

Laboratory of Comparative Cardiology, Komi Science Centre, Ural Division, RAS, Syktyvkar

THE RESEARCHES OF A.D. WALLER IN THE FIELD OF ELECTROCARDIOLOGY

In the article Waller's researches in the field of electrocardiology are analyzed. The main results that influenced much the development of modern electrocardiology are noted.

KEYWORDS: Waller's researches, electrocardiogram, heart electrical activity, Lippmann capillary electrometer, lead.

Актуальность. Огюст Дезире Уоллер (A.D. Waller) – известный английский физиолог XIX–XX веков – с помощью электрометра Липпманна исследовал электрическую активность изолированного сердца животных как при спонтанных сокращениях, так и при искусственной стимуляции [1], регистрировал потенциалы сердца от грудной клетки человека и для изучения сердечной деятельности животных и человека впервые использовал отведения ЭКГ от конечностей [2]. Известны его работы и по ЭКГ лошадей [3]. Уоллер использовал для регистрации электрической активности сердца разные комбинации отведений ЭКГ от четырех конечностей, рта и влагалища лошади. В 1913–1914 гг. эти данные были опубликованы более подробно [4]. Уоллер впервые на трупном материале (человек и кошка) поставил модельные эксперименты с использованием искусственных источников потенциалов, подведенных к сердцу. На поверхности тела при этом возникало дипольное распространение потенциалов.

Повторное прочтение оригиналов работ О.Д. Уоллера показало, что наряду с его признанными достижениями в области электрокардиологии есть и не обсуждаемые до сих пор работы ученого, которые внесли заметный вклад в современную электрокардиологию.

Цель. На основе нового прочтения оригиналов работ О.Д. Уоллера определить основные его достижения в области электрокардиологии, которые ранее не являлись предметом специального исследования историков науки.

Результаты. Уоллер работал во многих областях физиологии. Его особенно интересовали обычные для того времени вопросы сократительной функции мышечной ткани разных органов, в частности сердца. Начав свои исследования в области электрокардиологии с регистрации электрических потенциалов, Уоллер со временем приступил к исследованию связи механической и электрической работы сердца.

Нам представляется, что одним из важнейших достижений Уоллера является его вывод о том, что электрические явления предшествуют механическим. Уоллер полагал, что электрические колебания предшествуют сокращению сердца: «The antecedence of the electrical variation is clear and measurable» [5]. Уоллер, видимо,

первым при помощи инструментального аппарата четко определил эту последовательность. Его приоритет в этой области до сих пор не оценен в огромной мировой литературе по проблемам «excitation-contraction coupling».

Одним из первых исследователей О.Д. Уоллер установил, что в зависимости от точки приложения экспериментального импульса сокращение начинается на верхушке, если раздражение наносится на верхушку сердца, или на основании сердца, если стимулируется его основание [1].

Для современной электрокардиологии важны наблюдения О.Д. Уоллера о том, что частота сердечных сокращений зависит от температуры и состояния сердца [6].

О.Д. Уоллер сумел исследовать величины потенциалов (и их полярность) от шести первоначально предложенных им точек для локализации мест отведения потенциалов: оральные и анальные электроды и электроды от четырех конечностей. Уоллер впервые применил поверхностные отведения ЭКГ от грудной клетки человека («грудная клетка-спина») [5]. Предположив, что можно исследовать электрическую активность сердца неинвазивными методами, используя в качестве электродов конечности, ученый погрузил свои руки в сосуды с соленой водой, которые были соединены с двумя полюсами электрометра Липпманна, и таким образом впервые зарегистрировал ЭКГ от конечностей на самом себе [7].

Задолго до Эйнтховена Уоллер определил, что наиболее целесообразно регистрировать ЭКГ у человека от рук и левой ноги. Ученый обнаружил, что в зависимости от разных сочетаний комбинаций отведений ЭКГ от конечностей можно наблюдать отличающиеся по величине потенциалы. Уоллер продемонстрировал результаты своей экспериментальной работы в Лондонском королевском обществе при помощи своего любимца бульдога Джимми. Демонстрация даже вызвала интерес в Палате общин. Некоторые из присутствовавших во время экспериментов джентльменов считали, что животное испытывало боль во время регистрации ЭКГ, поскольку его конечности были погружены в ванночки с соленой водой, соединенные с гальванометром. На самом деле собака, естественно, не испытывала никаких болезненных ощущений [8].



Физиология

Огюст Дезире Уоллер разработал свою систему "подходящих" отведений [9]. Пробраз будущей методики регистрации ЭКГ от конечностей был создан именно Уоллером [2].

Список литературы

1. Waller A.D., Reid E.W. On the action of the excised mammalian heart. [Abstract] // *Proceedings of the Royal Society of London*, 1886. Vol. 41. P. 461-462.
2. Рощевский М.П. Столетие электрокардиографии и перспективы развития сравнительной электрокардиологии // *Сравнительная электрокардиология: Мат. межд. симп. Л.*, 1981. С. 12-16.
3. Рощевский М.П. Электрическая активность сердца и методы съёмки электрокардиограмм у крупного рогатого скота. Свердловск, 1958. 78 с.
4. Рощевский М.П. Электрокардиология копытных животных. Л.: Наука, 1978. 168 с.

УДК 636.7:612.014.42

Т.В. ИПОЛИТОВА, Ю.А. ХОМУТИННИКОВА

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

ОСОБЕННОСТИ А-РИТМА У ЩЕНКОВ НЕМЕЦКОЙ ОВЧАРКИ В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

В данной работе исследовались особенности α -ритма щенков немецкой овчарки в возрасте до 14 дней. В результате оказалось, что в этом возрасте преобладающим будет ритм α_2 , затем идет α_3 . Наименьшая часть приходится на α_1 . Таким образом, в отличие от аналогичных данных по электроэнцефалографии у детей, где основным ритмом является α_1 , преобладающим типом у исследуемых щенков является α_2 . Полученные данные свидетельствуют о существенном различии в развитии мозга у разных видов млекопитающих в неонатальном периоде.

Ключевые слова: α -ритм, электроэнцефалография, немецкая овчарка, неонатальный период.

T.V. IPPOLITOVA, J.A. KHOMUTINNIKOVA

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

THE A-RYTHM PARTICULARITIES OF SHEPHERDS PUPPIES AT NEONATAL PERIOD

In this paper we study the α -rhythm particularities of shepherds puppies at neonatal period in the age before 14 days. We show that the leading contribution comes from α_2 , then one sees the α_3 one. The less contribution comes from α_1 . So, opposite to the data for people babies, where the leading rhythm is α_1 , for the puppies under investigation the leading contribution is α_2 . Hence, there is a significant difference in cerebrum growth for the different kinds of mammals at the neonatal period.

KEYWORDS: α -rhythm, encephalography, German shepherd, neonatal period

Введение

Биоэлектрические явления в тканях отражают процесс жизнедеятельности, поэтому биопотенциалы исключительно надежные, универсальные и точные показатели любых физиологических функций. Регистрация биоэлектрических показателей позволяет наблюдать динамику тех биологических процессов, которые другими средствами нельзя уловить. Особую, можно сказать, выдающуюся роль биопотенциалы играют при изучении функционального состояния нервной системы. Возможность подойти к анализу деятельности головного мозга дает регистрация биоэлектрической активности мозга – электроэнцефалограмма (ЭЭГ) покоя.

В процессе онтогенеза, от рождения до старости, ЭЭГ претерпевает закономерные изменения. Все большее значение биопотенциалы мозга принимают при изучении возрастной физиологии.

В ходе многочисленных исследований установлено, что у животных различных видов проявление электрической активности головного мозга выражено в различной

5. Waller A.D. A Demonstration on man of electromotive changes accompanying the heart's beat // *J. Physiol.*, 1887. Vol. 8. P. 229-234.

6. Waller A.D., Reid E.W. On the action of the excised mammalian heart // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 1887. Vol. 178. P. 215-256.

7. Besterman E., Creese R. Waller – pioneer of electrocardiography // *British Heart Journal*, 1979. Vol. 42. P. 61-64.

8. Waller A.D. *Physiology the servant of medicine*. London, 1910. 160 p.

9. Waller A.D. On the electromotive changes connected with the beat of the mammalian heart and of the human heart in particular // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 1889. Vol. 180. P. 169-194.

Контактная информация:

a.ivanova@cardio.komisc. ru; тел.: 8(8212) 391-451

форме, степени ритмики, подвижности корковых процессов и т.п. Поэтому для правильной интерпретации электроэнцефалографических данных необходимо совершенно точно знать особенности электрической активности у данного вида животных. По аналогии с человеком логично предположить, что ЭЭГ также будет иметь значительные возрастные особенности.

ЭЭГ отражает функциональную активность мозга и таким образом зависит от степени организации мозговых систем. Одним из преимуществ ЭЭГ является и то, что в ее рисунке и топографии отражаются процессы созревания центральной нервной системы. Самые многочисленные исследования показали, что изменения корковой ритмики четко совпадают с этапами созревания мозга человека (Новикова Л.А., 1966; Зислина Н.Н., Тюков В.Л., 1968; Фарбер Д.А., Алферова В.В., 1972; Eeg-Olofsson O., 1970; Blume W., 1982).

Мозг в состоянии деятельности представляет собой источник э.д.с. предполагается, что ЭЭГ является результатом сложной суммации электрических потенциа-



лов многих нейронов, работающих в значительной степени независимо.

Генераторами электрических полей, которые могут быть зарегистрированы скальповыми электродами от головного мозга, являются нейроны с однородно ориентированными дендритами. ЭЭГ – это результат суммации потенциалов, полученных при смещении внеклеточных потоков, производимых группами нейронов. Таким образом, ЭЭГ зависит от цитоархитектуры группы нейронов, их связей, включая петли обратной связи, и геометрии их внеклеточных полей (Petshe, Rappelsberger, 1970; Rappelsberger, 1993; Гриндель, 2001).

Под понятием «ритм» на ЭЭГ подразумевают определенный тип электрической активности, соответствующий некоему определенному состоянию мозга и связанный с определенными церебральными механизмами.

α -Ритм, начиная с первых работ Бергера, известен как основной ритм ЭЭГ у человека. Он имеет частоту 9-13 Гц, амплитуда до 100 мкВ.

Амплитуда этого ритма весьма существенно колеблется во времени. Кроме изменений, связанных с функциональным состоянием мозга, достаточно регулярно наблюдаются спонтанные изменения амплитуды, так называемые модуляции, выражающиеся в чередующемся нарастании и снижении амплитуды волн с образованием характерных «веретен», длительность которых составляет несколько секунд.

В последние годы показана гетерохронность созревания отдельных частотных составляющих α -ритма. В.В. Алферова и Д.А. Фарбер выделяют три основных поддиапазона α (α_1 – 7,7-8,9 Гц; α_2 – 9,3-10,5 Гц; α_3 – 10,9-12,5 Гц), динамика изменения которых существенно меняется в онтогенезе. В возрасте от 4 до 8 лет у человека доминирует поддиапазон α_1 , после 10 лет доминирует α_2 , а α_3 достигает максимума выраженности к 16-17 годам. Эти данные могут свидетельствовать об относительной функциональной независимости указанных диапазонов и, возможно, различной их природе.

В наших исследованиях мы поставили цель изучить динамику становления α -ритма и его поддиапазонов у щенков домашней собаки. В данной работе показаны особенности α -ритмической активности головного мозга щенков немецкой овчарки в возрасте до 14 дней.

Содержание исследования. Нами было изучено 120 электроэнцефалограмм, снятых у щенков неонатального периода развития. Часть записей была искажена артефактами, неустранимыми при обработке, и для дальнейшей работы использовано 79 электроэнцефалограмм. Для окончательной обработки использовалось равное количество записей от каждого щенка.

В исследовании использовались 4 помета немецкой овчарки, полученные от родственных производителей. Общее количество щенков 21, у каждого щенка запись ЭЭГ производилась в возрасте до 3-х дней, 7 и 14 дней, в дневное время. Содержание собак вольерное, кормление – материнской вскармливанию без прикорма. Кормление собак-матерей однотипное, по стандартному рациону.

Снятие электроэнцефалограммы осуществлялось накладными электродами с нанесением электрогеля, при этом шерсть не сбрасывалась. Регистрация и анализ ЭЭГ проводились аппаратно-программным комплексом КОНАН на основе ПК (Кулаичев А.П., 1997).

При обработке данных мы изучали частоту встречаемости изучаемых характеристик α -ритма. Для этого в каждой из полученных записей была проанализирована частотная составляющая α -ритма и выявлены преобладающие частоты. Доля каждого из трех поддиапазонов α -ритма выражена в процентах. Весь изучаемый диапазон был разбит на N частей (для каждой зависимости N имеет свое значение, указанное в пояснениях к рис.), с помощью написанной нами программы обработки было подсчитано количество записей, лежащих в каждом интервале разбиения $[x_i, x_{i+1}]$. Поэтому на каждом из графиков по оси y отложено количество записей, лежащих в соответствующем диапазоне $[x_i, x_{i+1}]$. В результате получены 5 зависимостей, представленных в настоящей работе. На рис. 1 по оси x отложена средняя амплитуда α -ритма, на рис. 2 – средняя частота α -ритма, на рис. 3 – доля ритма α_3 , на рис. 4 – доля ритма α_2 , на рис. 5 – доля ритма α_1 .

Возраст от рождения до 14 дней у собак относится к неонатальному периоду развития. Щенок рождается глухим и слепым, мочеиспускание и дефекация возможны только после стимулирования матерью периниальной области. Щенки демонстрируют врожденные модели поведения, такие как звуковые сигналы для привлечения внимания, движение в сторону теплой поверхности, движение от беспокоящего воздействия, сосательный рефлекс. Из органов чувств присутствуют осязание и, до некоторой степени, обоняние и вкус. Поэтому изучаемая нами выборка может считаться практически однородной, и к ней применимы условия центральной предельной теоремы теории вероятностей (что подтверждается рис. 1-5), то есть в идеале изучаемые зависимости должны описываться распределением Гаусса, имеющем вид:

$$y = y_0 + \frac{A}{w\sqrt{\frac{\pi}{2}}} e^{-2\left(\frac{x-x_c}{w}\right)^2},$$

где y_0 – смещение, x_c – координата максимума распределения, A и w – нормировки распределения. На этом основании нами была проведена аппроксимация полученных зависимостей с помощью распределения Гаусса по указанной формуле. Ширина распределения характеризует уровень ошибок всех типов, и за исключением рис. 1 он оказался достаточно низким, что подтверждает правильность выбора данного распределения для аппроксимации. Высокий уровень ошибок на рис. 1 обусловлен особенностями снятия ЭЭГ, а именно тем, что электрическая разность потенциалов очень чувствительна к малейшим движениям щенка, а «убедить» его не двигаться в таком возрасте весьма проблематично. В остальных случаях статистический уровень ошибок – низкий.

Результаты исследования. Как видно из рис. 1, имеется фон значений амплитуд в широком диапазоне от 0,1 до 20 мкВ, при этом максимум приходится на $2,82 \pm 0,12$ мкВ. При анализе средней частоты α -ритма на рис. 2 легко видеть, что сами значения лежат в довольно узком диапазоне (то есть результат не столь чувствителен к движениям щенка), максимум приходится на $10,33 \pm 0,026$ Гц. Как следует из рис. 3-5, у исследуемых щенков преобладающим является ритм α_2 (рис. 4), на который приходится $52,26 \pm 1,05$ %. Затем следует (рис. 3)



Физиология

вклад ритма α_3 , на который приходится $31,67 \pm 1,44\%$. Наименьшая часть (рис. 5) приходится на ритм α_1 , а именно: $13,20 \pm 0,75\%$. Таким образом, преобладающим типом α -ритма у исследуемых щенков является ритм α_2 .

Объем мозга новорожденного щенка немецкой овчарки составляет около 10 см^3 . Считается, что у новорожденного щенка имеются практически все клетки мозга, которые будут у него во взрослом состоянии, но они не связаны между собой. Большая часть аксональных окончаний еще не достигла целевых нейронов, это происходит позже под влиянием внешних и внутренних факторов. Растущий мозг изменяется в двух аспектах – он увеличивается в размерах и изменяется структурно.

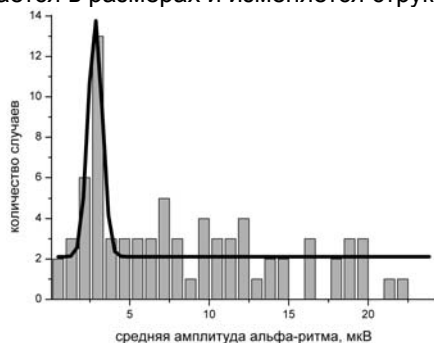


Рис. 1. Средняя амплитуда альфа-ритма

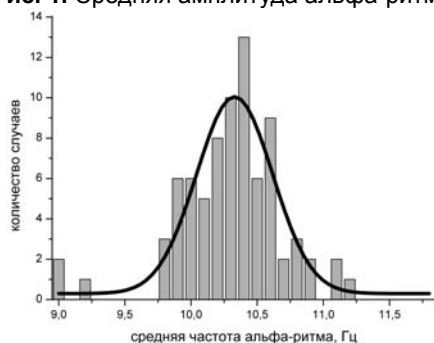


Рис. 2. Средняя частота альфа-ритма

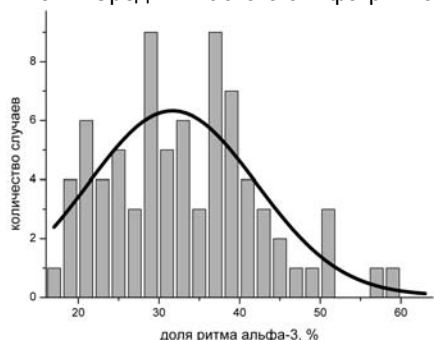


Рис. 3. Доля ритма альфа-3

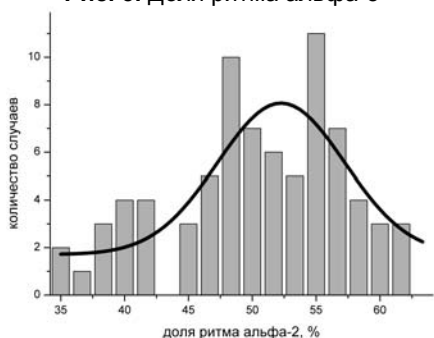


Рис. 4. Доля ритма альфа-2

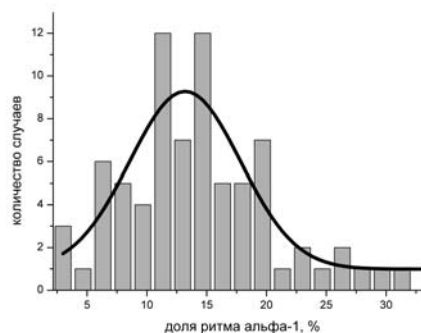


Рис. 5. Доля ритма альфа-1

Выводы. В данной работе исследовались особенности α -ритма щенков немецкой овчарки в возрасте до 14 дней. В результате оказалось, что в этом возрасте преобладающим будет ритм α_2 , затем идет α_3 . Наименьшая часть приходится на α_1 . Таким образом, в отличие от аналогичных данных по электроэнцефалографии человека, где основным ритмом является α_1 , преобладающим типом у исследуемых щенков является α_2 . Полученные данные свидетельствуют о существенном различии в развитии мозга у разных видов млекопитающих в неонатальном периоде.

Список литературы

1. Алферова В.В., Фарбер Д.А. Отражение возрастных особенностей функциональной организации мозга в электроэнцефалограмме покоя // Структурно-функциональная организация развивающегося мозга / Под ред. Д.А. Фарбер и др. Л., 1990. С. 45.
2. Крылов Д.Н., Кулакова Т.П., Хамаганова Т.Г. Онтогенез нейродинамики и биэлектрической активности мозга // Закономерные тенденции формирования личности. М., 1972.
3. Кулаичев А.П. Компьютерная электрофизиология. - 3-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во МГУ, 2002. 379 с.
4. Новикова Л.А. Электроэнцефалография и ее использование для изучения функционального состояния мозга // Естественнонаучные основы психологии / Под ред. А.А. Смирнова, А.Р. Лурия, В.Д. Небылицына. М.: Педагогика, 1978. С. 155-177.
5. Сахиуллина Г.Т., «Высшая нервная деятельность». Т 1. Вып 3, 1951.
6. Фарбер Д. А. Электроэнцефалограмма детей и подростков. /Фарбер Д. А., Алферова В. В. М.: Медицина, 1972.
7. Хомская Е.Д. Системные изменения биоэлектрической активности мозга как нейрофизиологическая основа психических процессов // Естественнонаучные основы психологии / Под ред. А.А. Смирнова, А.Р. Лурия, В.Д. Небылицына. М.: Педагогика, 1978. С. 234-253
8. Шеповальников А.Н., Цицерошин М.Н., Апасионок В.С. Формирование биопотенциального поля мозга человека. Л.: Наука, 1979.
9. Jaakko M., Robert P. Bioelectromagnetism. Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields. Oxford University Press, 1995.
10. Lindsley D.B. The electroencephalogram: Autonomous electrical activity in man and animals / Lindsley D.B., Wicke J.D. // Bioelectric recording techniques / R.Thompson, M.N.Patterson (Eds.) New York: Academic Press, 1974. P. 3-79.
11. Matshura K., Lamamoto H., Fukuzawa Y. et al. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 1985. Vol. 60. P. 397-401.
12. Vogel F. The genetic basis of the normal human electroencephalogram (EEG) // Human Genetics, 1970. V.10.

Контактная информация:
Хомутинникова Ю.А.
wintersky2008@yandex.ru



УДК 619:636:2:636:087:8

Н.Х. МАМАЕВ, И.Н. ДЖАМАЛУДИНОВА, М.С. АНАЕВ

ГНУ «Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт» РАСХН, г. Махачкала

Р.А. АБДУЛЛАЕВ, Э.М. МАМЕДОВА

Институт ЮжДаг, г. Дербент

**ВЛИЯНИЕ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ПРОБИОТИКА
«МЕКЦИН» НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПУЛ СВОБОДНЫХ
АМИНОКИСЛОТ СЫВОРОТКИ КРОВИ КОРОВ**

В работе приведены результаты исследований эффективности действия биологически активного пробиотика «Мекцин» на метаболизм свободных аминокислот сыворотки крови коров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: свободные аминокислоты, пробиотик, сыворотка крови.

N.H. MAMAEV, I.N. DZHAMALUDINOVA, M.S. ANAEV

Cis-Caspian Research Veterinary Institute, Makhachkala

R.A. ABDULLAEV, E.M. MAMEDOVA

Institute Yuzhdag, Derbent

**AN INFLUENCE OF NEW BIOLOGICALLY ACTIVE PROBIOTIC "MEKGIN"
ON METABOLIC POOL OF FREE AMINO ACIDS IN WHEY BLOOD OF COWS**

In the work presented the results of researches of efficiency of biologically active probiotic "Mekcin" actions are brought over on metabolism of free amino acid of whey blood of cows.

KEYWORDS: free amino acid, probiotic, whey blood.

Увеличение производства экологически чистых, высококачественных продуктов животноводства является важной задачей современной науки и практики. Создавшееся положение в молочном животноводстве с учетом новых условий хозяйствования (фермерство, крестьянские хозяйства, частное предпринимательство и др.) требует нового подхода к решению проблем, связанных с нарушением обменных процессов в организме животных.

Состояние обмена веществ в крови животных является показателем, определяющим физиологические изменения в организме, включая и патологические. Из общего числа заболеваний животных в Северо-Кавказском регионе, в т.ч. в зоне Прикаспия, незаразные болезни составляют 90-95%, из них с нарушением обмена веществ – более 50% и многие из них протекают на субклиническом уровне, что отрицательно отражается на молочной продуктивности, общей неспецифической резистентности организма к различным заболеваниям инфекционной, инвазионной патологии, способствуют рождению слабого, маложизнеспособного приплода [3, 4].

Исследования, проведенные в условиях равнинной и предгорной зон Северо-Кавказского региона, показали, что нормальное течение физиологических процессов и биохимических реакций в организме животных зависит от наличия в кормах протеинов, углеводов, жиров и биологически активных в достаточном количестве и оптимальных соотношениях. Питательную ценность рационов можно сбалансировать путем включения в их состав экологически безопасных композитов биологически активных веществ.

Цель работы: выяснение эффективности биологически активного пробиотика на метаболический пул свободных аминокислот в сыворотке крови коров. В

функциональной деятельности организма свободные аминокислоты выполняют субстратную и регуляторную функции в биосинтезе белка, активно включаются в энергетику, являются источниками физиологически активных аминов, принимают участие в образовании нуклеиновых кислот, липидов и гормонов [2, 5]. Такие аминокислоты, как гамма-аминомасляная, глутаминовая, аспарагиновая, глицин, пролин, а также производные аминокислот (катехоламины, серотонин и таурин) наделены медиаторными функциями [1].

Материалы и методы исследований. Опыты проводились на молочной ферме колхоза «Кадиркентский» Сергокальского района на 24 коровах красной степной породы, подобранных по принципу аналогов с учетом возраста, живой массы и периода лактации, из которых сформировали две подопытные группы по 12 гол. в каждой – контроль/опыт.

Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови обеих групп исследовали в период летнего пастбищного содержания. Животные первой группы в течение зимнего периода получали основной рацион, второй – основной рацион и биологически активный пробиотик «Мекцин» в дозе 80-100 г на одно животное в сутки. Содержание аминокислот в сыворотке крови коров первой и второй группы определяли перед весенним выпасом.

Кровь для анализа у животных брали утром из верхней полой вены. Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови определяли методом ионообменной жидкостной хроматографии на автоматическом анализаторе аминокислот ААА-881.

Результаты исследования. Анализ данных свидетельствует, что в летний период в крови животных содержание незаменимых свободных аминокислот суще-



Физиология

ственно превышает концентрацию заменимых. При этом аминокислотный пул отличается высоким содержанием глутамата, глицина, аланина, валина и аргинина. Эта группа аминокислот составляет 52,1% аминокислот крови. Содержание таких аминокислот, как лизин, изолейцин и лейцин в сыворотке крови составляет 21,7% от общего аминокислота. Содержание остальных аминокислот в крови составляет от 0,08 до 1,46 мг на 100 мл крови (табл. 1, 2).

Исследование аминокислотного состава сыворотки крови у 1-й группы коров в весенний период года выявило повышение суммы аминокислот от 34,67 до 37,74 мг на 100 мл крови. У данной группы животных содержание глутаминовой кислоты в крови повышается, а аспарагиновой кислоты и аланина, метаболизм которых тесно связан с глутаминовой, снижается на 25% и 35%. По данным литературы [3], в этот период года содержание сахара в сыворотке крови коров существенно снижается, что способствует нарушению сахаро-протеинового соотношения. В свете этих данных уменьшение суммарного количества аминокислот глутаминовой группы свидетельствует о том, что эти аминокислоты участвуют не только в поддержании энергетического обмена организма, но и в определенной степени могут быть источниками аммиака, содержание которого у этой группы увеличивается. Стабильное содержание серина и глицина в сыворотке плазмы крови, видимо, является результатом интеграции многих путей их ферментативного превращения, которое равнонаправленно изменяется у этой группы животных (табл. 1).

Как видно из табл. 1, весной в сыворотке крови контрольных коров содержание цистеина снижается на 32%. По данным литературы [3], в весенне-зимний период в сыворотке крови существенно снижается содержание аскорбиновой кислоты. Снижение концентрации антиоксиданта аскорбата обусловлено как нарушением структуры рациона, так и обратным захватом его органами, тканями и лейкоцитами крови. В связи с этим уменьшение количества цистеина в крови у этой группы животных, видимо, связано с усилением его окисления под воздействием продуктов перекисного окисления липидов, ибо концентрация серина, как предшественника цистеина, существенно не изменяется, а метионина – снижается на 25%.

Таблица 1
Влияние биологически активной добавки «Мекцин» на содержание заменимых аминокислот в сыворотке крови коров
(мг/100мл; M ± m, n=12)

Аминокислота	Летняя группа	1-я группа (контроль)	2-я группа (опыт)
	M ± m	M ± m	M ± m
Глутамат	3,62 ± 0,18	4,21 ± 0,21	3,77 ± 0,17
Аспарат	1,46 ± 0,07	1,11 ± 0,05*	1,34 ± 0,06
Аланин	2,95 ± 0,14	2,21 ± 0,11*	2,71 ± 0,13
Глицин	3,79 ± 0,19	3,85 ± 0,18	4,24 ± 0,18*
Серин	1,06 ± 0,05	1,19 ± 0,05	0,98 ± 0,05
Цистеин	0,92 ± 0,05	0,63 ± 0,03*	1,07 ± 0,06
Тирозин	1,34 ± 0,06	1,67 ± 0,08*	1,42 ± 0,07
Аммиак	3,57 ± 0,17	4,21 ± 0,20*	3,63 ± 0,18
Сумма	15,14 ± 0,78	14,87 ± 0,71	15,53 ± 0,75

Примечание: * – значения достоверны по отношению к контролю (p<0,05)

Содержание циклической аминокислоты тирозина в сыворотке крови 1-й группы коров рано весной достоверно повышается, что, видимо, связано с нарушением синтеза биологически активных соединений тиронина, триод-тиронина из-за изменения функциональных параметров щитовидной железы [4].

Кроме изменений в содержании заменимых аминокислот большой интерес представляет динамика незаменимых аминокислот, которая непосредственно отражает как изменения в метаболизме белков различных тканей, так и полноценность кормового белка – протеина.

Как видно из табл. 2, суммарное содержание незаменимых аминокислот в плазме крови 1-й группы коров после стойлового периода достоверно повышается за счет увеличения концентрации лизина, треонина, лейцина, изолейцина, валина. При этом содержание аргинина, гистидина, фенилаланина, метионина существенно не изменяется.

Если учесть неполноценность кормового рациона из-за недостатка кормового белка протеина и низкого содержания ряда важных аминокислот метионина, лизина, лейцина, изолейцина, тирозина и аргинина [3], то повышение суммы незаменимых аминокислот в сыворотке крови у этой группы животных, видимо, обусловлено нарушением соотношения процессов синтеза и распада белков в тканях. Сдвиги в свободном метаболическом пуле незаменимых аминокислот могут быть обусловлены не только нарушением пластического обмена в зимний период, но и распадом и образованием физиологически активных соединений. Так, стабильное содержание аргинина в сыворотке крови животных может быть связано с повышением активности аргиназы, а гистидина – с активацией синтеза физиологически активных аминов.

Таблица 2
Влияние биологически активной добавки «Мекцин» на содержание незаменимых аминокислот в сыворотке крови коров
(мг/100мл; M ± m, n=12)

Аминокислота	Летний контроль	1-я группа	2-я группа
	M ± m	M ± m	M ± m
Лизин	2,39 ± 0,21	3,23 ± 0,15*	2,47 ± 0,21
Гистидин	1,12 ± 0,09	1,17 ± 0,08	1,18 ± 0,08
Аргинин	2,93 ± 0,23	2,87 ± 0,22	2,91 ± 0,22
Треонин	0,75 ± 0,06	0,94 ± 0,04*	0,68 ± 0,06
Валин	4,70 ± 0,38	5,37 ± 0,20*	4,81 ± 0,20
Метионин	1,18 ± 0,08	1,24 ± 0,05	1,12 ± 0,05
Изолейцин	2,35 ± 0,21	2,97 ± 0,14*	2,51 ± 0,14
Лейцин	2,74 ± 0,23	3,57 ± 0,16*	3,02 ± 0,16
Фенилаланин	1,37 ± 0,09	1,51 ± 0,08*	1,33 ± 0,08
Сумма	19,53 ± 1,01	22,87 ± 1,12	20,03 ± 1,07

Включение биологически активной добавки «Мекцин» в рацион кормов коров в течение зимнего периода способствует восстановлению обмена веществ, оптимизации физиолого-биологического статуса организма, повышению молочной продуктивности в подопытной группе животных. Так, у второй группы животных повышенное количество глутаминовой кислоты в сыворотке крови коров 1-й группы снижается, а сниженная концентрация аланина и аспартата повышается до контрольного уровня. Восстановление уровня аминокислот глутами-



новой группы в сыворотке крови коров при включении в рацион «Мекцина», видимо, обусловлено повышением активности аланин- и аспаратаминотрансфераз. Переаминирование глутаминовой кислоты с щавелевоуксусной и пировиноградной кислотами при повышенном содержании аммиака имеет определенное значение, так как образующийся при этом α -кетоглутарат, очевидно, снова может аминироваться. Повышение содержания глицина без существенного изменения его предшественника серина также свидетельствует об усилении аминирования гликолата и 3-фосфогидроксипирувата с глутаминовой кислотой [5].

Суммарное содержание незаменимых аминокислот, повышенное в сыворотке крови контрольной группы животных при включении в основной рацион кормов «Мекцина» у 2-й группы животных, снижается за счет уменьшения концентрации треонина, лейцина, изолейцина, валина, фенилаланина. Снижение уровня свободных незаменимых аминокислот в сыворотке крови подопытных животных можно объяснить не только превалированием процесса синтеза белков над их распадом, но и повышением интенсивности их метаболизма, стимуляцией синтеза катехоламинов и тиреоидных гормонов, что способствует восстановлению уровня их предшественников (табл. 1, 2).

Заключение. Результаты исследований свидетельствуют, что нарушения метаболизма аминокислот, вызванные неполноценным и несбалансированным кормлением животных, нормализуются при включении в их рацион биологически активного пробиотика «Мекцин».

Список литературы

1. Глебов Р.Н., Крижановский Г.Н. Функциональная биохимия синапсов. - М.: Медицина, 1978. - 324с.
2. Гулый М.Ф. О регуляторной роли аминокислот в биосинтезе и формировании структуры белка // Укр.биохим.журнал, - 1979. - Т.60 №2.- С. 243-261.
3. Джамалудинова И.Н. Мамаев Н.Х., Абдуллаев Р.А. и др. Оптимизация обменных процессов в организме коров в зоне Прикаспия при включении в рацион белково-минеральных добавок // Докл. рос. академии с.-х. наук, 1999. №2. С. 46-47.
4. Джамалудинова И.Н., Мамаев Н.Х., Абдуллаев Р.А., Анаев М.С. Влияние биологически активных веществ на физиолого-биохимический статус и продуктивность молодняка в условиях различных зон Прикаспийского региона России: Мат. Всерос. науч. конф. «С.-х. наука респ. Мордовия: достижения, направления развития». Саранск, 2005. С. 310.
5. Кричевская А.А., Лукаш А.И. Шугалей В.С., Бондаренко Т.И. Аминокислоты, их производные и регуляция метаболизма. Ростов-н/Д.: СКНЦ ВШ, 1983. 110 с.

Контактная информация:

Джамалудинова Инна Николаевна:
8(8722) 68 14 01; e-mail: elya_09@mail.ru

УДК 612.172.4

С.Л. СМЕРНОВА, Н.Л. КОЛОМЕЕЦ, М.П. РОЩЕВСКИЙ, И.М. РОЩЕВСКАЯ

Лаборатория сравнительной кардиологии Коми, научный центр УрО РАН, г. Сыктывкар

ФОРМИРОВАНИЕ ОБЛАСТЕЙ НАЧАЛЬНОЙ ПРЕДСЕРДНОЙ АКТИВНОСТИ НА ЭПИКАРДЕ ПРЕДСЕРДИЙ КОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ С РАЗНОЙ ЧАСТОТОЙ СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

Была изучена последовательность деполяризации эпикарда предсердий свиньи при разной спонтанной частоте сердечных сокращений при синусно-предсердном ритме с использованием метода синхронной многоканальной электрокардиограммы. У обследованных нами животных ЧСС варьировала от 92 до 184 уд./мин., нами выделены группы с высокой (163 ± 17 уд./мин.) и низкой (111 ± 17 уд./мин.) ЧСС. У животных первой группы формируется один очаг прорыва возбуждения на эпикард правого предсердия в области верхней полой вены. У животных второй группы на эпикарде правого ушка формируются два фронта волны возбуждения, распространяющиеся одновременно, но разнонаправленно.

Ключевые слова: относящаяся к предсердию epicardial деполяризация, различные сердечные нормы, свинья.

S.L. SMIRNOVA; N.L. KOLOMEYETS, M.P. ROSHCHEVSKY, I.M. ROSHCHEVSKAYA

Laboratory of Comparative Cardiology Komi, Science Centre, Ural Division, RAS, Syktyvkar

CHRONOTOPOGRAPHY OF ATRIAL EPICARDIUM DEPOLARIZATION IN PIG

The sequence of pig atrial epicardial depolarization has been studied at various spontaneous heart rates using a method of synchronous multichannel electrocardiotopography. Various numbers of initial activation areas and excitation wave fronts were shown on pig atrial epicardium at high and low spontaneous heart rates. In animals with high heart rate (163 ± 17 beats per minute) two areas of the excitation wave breakthrough onto atrial epicardium and, accordingly, several depolarization fronts were observed. In the group of animals with heart rate 111 ± 17 beats per minute one epicardial area of initial atrial activity was formed.

KEYWORDS: atrial epicardial depolarization, various heart rates, pig.

Последовательность деполяризации предсердий зависит от местоположения области синоатриального узла, архитектоники проводящей системы и рабочего миокарда. Синусно-предсердный узел является сложной трехмерной структурой, состоящей из большого

числа пейсмекерных клеток [1]. Возбуждение предсердий может распространяться от нескольких отдельных зон, расположенных в синусно-предсердном узле, формирующих на эпикарде одновременно до трех фронтов деполяризации [2, 3]. Неоднородность возбуждения

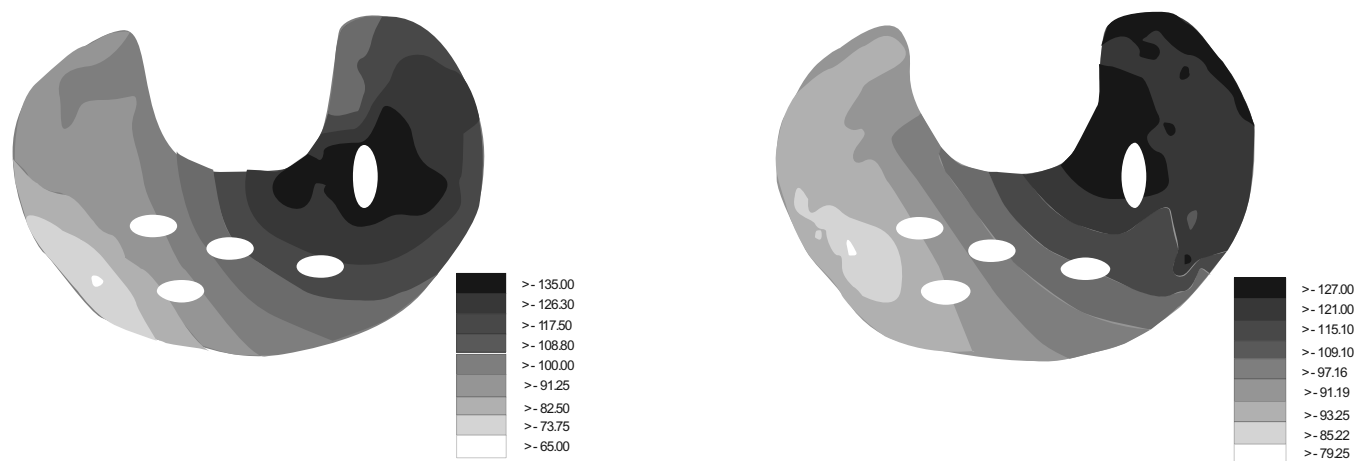


Рис. 1. Последовательность распространения волны возбуждения по эпикарду предсердий свиньи:

А – первая группа животных с низкой ЧСС (111 ± 17 уд./мин.),
Б – вторая группа животных с высокой ЧСС (163 ± 17 уд./мин.).

Время указано в мс относительно зубца R_{II} .

ПП – правое предсердие; ЛП – левое предсердие; ВПВ – верхняя полая вена; НПВ – нижняя полая вена; ЛВ – легочные вены

синусно-предсердного узла может приводить к изменению картины деполяризации области, непосредственно прилегающей к нему.

Цель работы: исследование последовательности деполяризации эпикарда предсердий свиньи при разной спонтанной частоте сердечных сокращений при синусно-предсердном ритме.

Исследования выполнены при поддержке научной школы академика М.П. Роцевского; гранта РФФИ 09-04-92011-ННС_а; РФФИ 08-04-01804-а; Программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине».

Материалы и методы исследования. Исследование последовательности деполяризации предсердий проведено на десяти свиньях породы Ландрас и Крупная белая, обоего пола, возрастом три месяца, весом 25-30 кг, при помощи электрокардиотопографической установки. Животных наркотизировали тиопенталом натрия (50 мг/кг) и уретаном (1,5 г/кг) внутримышечно. Множественные эпикардальные электрограммы от 64 до 256 униполярных отведений на предсердиях регистрировали синхронно с ЭКГ в сагиттальных биполярных туловищных отведениях по Роцевскому [4].

Последовательность деполяризации предсердий анализировали по хронотопографическим картам [5]. Момент прихода волны возбуждения в каждой точке отведения определяли по минимуму первой производной потенциала по времени.

Данные представлены в виде среднего арифметического \pm стандартное отклонение.

Результаты исследования. В результате проведенных исследований нами было выделено две группы животных с разной частотой спонтанных сердечных сокращений. В первой группе животных ЧСС составила 111 ± 17 уд./мин. ($n=7$), во второй – 163 ± 17 уд./мин. ($n=3$) ($p < 0,005$).

У животных первой группы формируется один очаг прорыва возбуждения на эпикард правого предсердия в области верхней полой вены (рис. 1А). От очага началь-

ной активности два фронта деполяризации последовательно распространяются к верхней части дорсальной и вентральной сторон и в область межпредсердной перегородки. Фронт деполяризации огибает верхнюю полую вену и переходит сначала на верхнюю часть вентральной стороны, затем на дорсальную поверхность правого ушка. Волна возбуждения последовательно распространяется от верхней к нижней части ушка по вентральной и дорсальной поверхностям. Нижняя область ушка на дорсальной поверхности возбуждается последней.

На межпредсердной перегородке по эпикарду фронт волны возбуждения переходит на левое предсердие в верхней части вентральной стороны в области основания легочных вен через 25 ± 5 мс после формирования области начальной активации на эпикарде правого предсердия. По левому ушку волна возбуждения сначала распространяется к верхним и нижним частям вентральной поверхности, затем переходит на дорсальную поверхность. По дорсальной стороне возбуждение последовательно переходит сначала в верхнюю, а затем в нижнюю часть, которая деполяризуется последней на эпикарде обоих предсердий. Длительность деполяризации эпикарда предсердий составила 48 ± 5 мс, правого предсердия – 27 ± 4 мс, левого – 22 ± 7 мс.

У животных второй группы на эпикарде правого предсердия формируется зона первичной электронегативности, положение которой аналогично области прорыва волны возбуждения на эпикард у животных первой группы. В области верхней полой вены на внутренней поверхности правого ушка (т. е. под ушком) через 2-3 мс возникает второй очаг прорыва деполяризации на эпикард (рис. 1Б). На эпикарде правого ушка формируются два фронта волны возбуждения, распространяющиеся одновременно, но разнонаправленно. Один смещается на верхние сегменты дорсальной и вентральной сторон, прилегающих к основанию верхней полой вены. Второй последовательно деполяризует внутреннюю поверхность вентральной стороны правого ушка. Фронты деполяризации двигаются в направлении друг к другу,



возбуждая верхнюю и нижнюю части вентральной поверхности ушка. В средней части вентральной стороны фронты сливаются в один, который активизирует дорсальную поверхность правого ушка.

На эпикард левого предсердия волна возбуждения переходит по межпредсердной перегородке спустя 25 ± 5 мс после момента возникновения очага начальной активации. В левом предсердии формируются два фронта волны активации: один переходит с правого предсердия на левое в верхней части вентральной стороны в районе основания легочных вен, активируя верхние сегменты ушка; второй – прорывается на внутреннюю поверхность эпикарда вентральной стороны левого ушка (под ушком), возбуждая нижнюю область вентральной стороны. Оба фронта объединяются в средней части ушка и последовательно распространяются на дорсальную сторону левого предсердия. Длительность деполяризации эпикарда предсердий составила 43 ± 2 мс, правого предсердия – 27 ± 6 мс, левого – 17 ± 6 мс.

Обсуждение результатов. Частота сердечных сокращений у наркотизированных свиней составляет от 91 до 167 уд./мин., в среднем 132 ± 32 уд./мин. [6]. У обследованных нами животных ЧСС варьировала от 92 до 184 уд./мин, нами выделены группы с высокой (163 ± 17 уд./мин.) и низкой (111 ± 17 уд./мин.) ЧСС.

Экспериментально показано, что при различных воздействиях: фармакологическими препаратами (изопротеренол, пентобарбитал) и стимуляции вагуса, у собак происходит изменение положения зон начального возбуждения в пределах области синусно-предсердного узла. При высокой ЧСС (164 уд./мин.) зоны ранней активации расположены непосредственно в области верхней полой вены, при низкой (102 уд./мин.) – ближе к нижней полой вене [2, 3].

Положение области прорыва волны возбуждения на субэпикард зависит от расположения синусно-предсердного узла в стенке предсердия. Экспериментальное исследование интрамуральной хронотопографии деполяризации предсердий, проведенных нами ранее, показало, что область начальной активации у свиней формируется интрамурально [7]. Волна возбуждения распространяется по эндокарду правого предсердия свиньи от синусно-предсердного узла вдоль задней стенки к нижней полой вене, верхней части правого предсердия и левому предсердию [8]. На эпикарде предсердий формируется кардиоэлектрическое поле, определяемое интрамуральным распространением волны возбуждения. На эпикарде предсердий в первую очередь деполяризуется верхняя часть, затем вентральная поверхность правого ушка [9].

В зависимости от количества областей прорыва волны возбуждения на эпикард правого предсердия изменяется направление и количество фронтов деполяризации. Распространение возбуждения по эпикардальной поверхности предсердий у собаки может идти от одной до трех областей, находящихся вокруг верхней полой вены [10, 11]. При этом на эпикарде предсердий формируется сложная картина последовательности деполяризации из-за наличия нескольких одновременно существующих фронтов.

У животных с разной ЧСС кроме отличий в картине деполяризации эпикарда правого предсердия выявлены

изменения в возбуждении межпредсердной перегородки и левого предсердия. У животных с низкой ЧСС волна возбуждения переходит на левое предсердие в верхней части вентральной стороны в области основания легочных вен. У животных с высокой ЧСС наблюдается наличие двух областей перехода возбуждения с правого предсердия в левое: в верхней части вентральной стороны в районе основания легочных вен, на внутренней поверхности эпикарда с вентральной стороны под ушком. У животных обеих групп в последнюю очередь деполяризуется нижняя часть дорсальной стороны левого предсердия.

Длительность деполяризации эпикарда предсердий достоверно не отличается у животных с разной частотой спонтанных сердечных сокращений.

Заключение. Таким образом, у животных с различной частотой спонтанных сердечных сокращений выявлено разное количество и расположение областей прорыва волны возбуждения на эпикард правого предсердия и формирование фронтов возбуждения, одновременно распространяющихся по межпредсердной перегородке к левому предсердию. У животных с высокой ЧСС на эпикарде образуется более сложная хронотопографическая картина последовательности деполяризации с большим числом фронтов, распространяющихся одновременно.

Список литературы

1. Anderson R.H., Christoffels V.M., Moorman A.F.M. Controversies concerning the anatomical definition of the conduction tissues // The Anatomical Record (Part B: New Anat.), 2004. Vol. 280B. P. 8-14.
2. Boineau J.P., Schuessler R.B., Mooney C. R. et al. Multicentric origin of the atrial depolarization wave: the pacemaker complex // Circulation., 1978. Vol. 58. №6. P. 1036-1048.
3. Schuessler R.B., Boineau J.P., Bromberg B.I. Origin of the sinus impulse // J. Cardiovasc. Electrophysiol., 1996. Vol. 7. № 3. P. 263-274.
4. Роцевский М.П. Электрическая активность сердца и методы съемки электрокардиограмм у крупного рогатого скота. Свердловск: Изд. «Урал НИИСХ и УрГУ», 1958.
5. Роцевский М.П., Артеева Н.В., Коломеец Н.Л. и др. Система «КАРДИОИНФОРМ» для визуализации и анализа электрического поля сердца // Мед. академия, 2005. №5. P. 74-79.
6. Bharati S., Levine M., Stephen Huang S.K. et al. The conduction system of swine heart // Chest., 1991. Vol. 100. № 1. P. 207-212.
7. Роцевский М.П., Чудородова С.Л., Роцевская И.М. Отображение на поверхность тела деполяризации предсердий: Докл. акад. наук, 2007. Е. 412. № 5. P. 704-706.
8. Gepstein L., Hayam G., Ben-Haim S.A. A novel method for non-fluoroscopic catheter-based electroanatomical mapping of the heart // Circulation, 1997. Vol. 95. № 6. P. 1611-1622.
9. Чудородова С.Л., Роцевский М.П., Роцевская И.М. Кардиоэлектрическое поле на поверхности предсердий свиньи // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова, 2006. № 12. P. 1436-1443.
10. Schuessler R.B., Boineau J.P., Bromberg B.I. et al. Normal and abnormal activation of atrium // Cardiac Electrophysiology: from cell to bedside / D.P. Zipes, J. Jalife. 2nd edition. W.B. Saunders Company, 1995. P. 543-562.
11. Boineau J.P., Miller C.B., Schuessler R.B. et al. Activation sequence and potential distribution maps demonstrating multicentric atrial impulse origin in dogs // Circulation Res., 1984. Vol. 54. № 3. P. 332-347.

Контактная информация: С.Л. Смирнова
s.smirnova@cardio.komisc.ru



АРХИТЕКТОНИКА РАБОЧЕГО МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА КРЫСЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЫЗВАННОЙ РЕНОВАСКУЛЯРНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Экспериментально вызванная у нормотензивных крыс реноваскулярная гипертензия приводит к гипертрофии левого желудочка за счет неоднородного утолщения и изменения ориентации волокон субэпикардального, кольцевого и субэндокардиального слоев.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: архитектура рабочего миокарда, реноваскулярная гипертензия, гипертрофия левого желудочка, неоднородность миокарда.

O.V. SUSLONOVA, I.M. ROSHCHEVSKAYA

Laboratory of Comparative Cardiology, RAS Ural Branch, Komi Science Center, Syktyvkar

THE ARCHITECTURE OF LEFT VENTRICULAR WORKING MYOCARDIUM UNDER EXPERIMENTALLY INDUCED RENOVASCULAR HYPERTENSION

Renovascular hypertension experimentally induced in normotensive rats leads to left ventricular hypertrophy due to heterogeneous thickening and the fiber orientation changing of subepicardial, circumferential, and subendocardial layers.

KEYWORDS: architecture of the left ventricle, renovascular hypertension, hypertrophy of the left ventricle, myocardial heterogeneity.

Проблеме ремоделирования миокарда, которое проявляется в изменении кривизны и толщины сердечной стенки, уделяется большое внимание [8]. Одним из вариантов ремоделирования миокарда можно считать гипертрофию желудочков [5], развивающуюся в ответ на повышение артериального давления. Крысы являются наиболее предпочтительными моделями для изучения механизмов развития гипертензии [2]. Основную роль в патогенезе гипертензии реноваскулярного генезиса играет ренин-ангiotензин-альдостероновая система, которая приводит к гипертрофии левого желудочка [6].

Целью настоящей работы явилось исследование архитектуры рабочего миокарда левого желудочка сердца крысы с экспериментально вызванной реноваскулярной гипертензией.

Материалы и методы. Исследование проведено на 20 самках крыс линии Вистар в возрасте 6 месяцев: 10 нормотензивных животных (контроль) и 10 с экспериментально вызванной гипертензией. Реноваскулярную гипертензию вызывали путем сужения левой почечной артерии на 50% (модель Голдблатта). Через четыре недели после операции измеряли артериальное давление в брюшной аорте, сердца вырезали и фиксировали в 10%-ном растворе формалина в течение одной-двух недель. Анализировали поперечные гистологические срезы толщиной 5 мкм, сделанные на уровне папиллярных мышц левого желудочка. Угол наклона миокардиальных волокон определяли по фотографиям срезов, которые получали и обрабатывали системой анализа изображений (ВидеоТест, Санкт-Петербург). Продольная ось левого желудочка перпендикулярна поперечной оси изображения и проходит через центр полости левого желудочка. Тангенциальную плоскость определяли как касательную к эпикардиальной поверхности, которая параллельна продольной оси левого желудочка. Угол наклона вычисляли как угол между волокном и касательной к эпи-

кардиальной поверхности. Угол для правозакрученной спирали в субэндокардиальном регионе считали положительным, для левозакрученной спирали в субэпикардиальном участке – отрицательным. Трансмуральная глубина стенки представлена как ноль градусов на эндокарде и сто градусов на эпикарде. Данные представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратичного отклонения. Достоверность оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Результаты исследования и обсуждение. Показано достоверное ($p < 0,001$) увеличение систолического (162 ± 12 мм рт.ст.) и диастолического давления (105 ± 3 мм рт.ст.) у крыс с реноваскулярной гипертензией по сравнению с контролем (115 ± 12 мм рт.ст. и 65 ± 2 мм рт.ст. соответственно). У гипертензивных крыс толщина стенок левого желудочка изменяется в разных участках неодинаково по сравнению с нормотензивными. Самое большое увеличение толщины – на 27% – наблюдалось на задней стенке левого желудочка ($4,2 \pm 0,3$ мм у гипертензивных животных по сравнению с $3,3 \pm 0,2$ мм в контроле). В меньшей степени увеличилась толщина передней стенки – на 11% ($3,9 \pm 0,4$ мм и $3,5 \pm 0,5$ мм соответственно). Толщины латеральной стенки и межжелудочковой перегородки увеличились равномерно на 18-19% ($4,5 \pm 0,5$ мм у гипертензивных по сравнению $3,7 \pm 0,3$ мм у нормотензивных животных), межжелудочковой перегородки ($3,7 \pm 0,2$ мм и $3,0 \pm 0,2$ мм соответственно).

Анализ гистологических срезов показал достоверное изменение угла наклона субэпикардиальных волокон у крыс с экспериментально вызванной гипертензией по сравнению с нормотензивными животными только на передней стенке левого желудочка (рис. 1а). Толщина субэпикардиального слоя практически не изменялась.

Ориентация волокон кольцевого слоя при развитии реноваскулярной гипертензии изменяется в различной степени на разных участках левого желудочка. В обла-

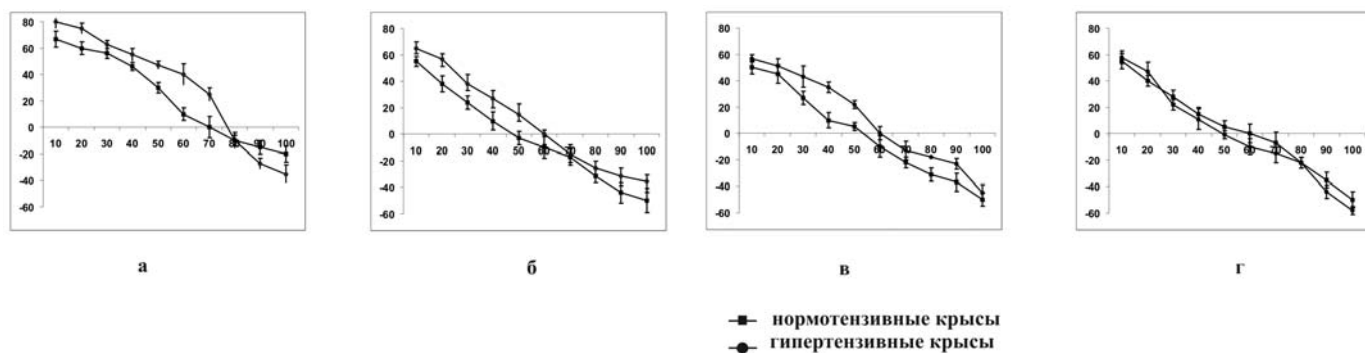


Рис. 1. Ориентация миокардиальных волокон в левом желудочке и межжелудочковой перегородке:

а) передняя стенка левого желудочка; б) латеральная стенка левого желудочка; в) задняя стенка левого желудочка; г) межжелудочковая перегородка.

По оси X – трансмуральная глубина (в %) от эндокарда к эпикарду; по оси Y – угол наклона миокардиальных волокон (в градусах)

сти передней стенки левого желудочка (50-70% трансмуральной глубины стенки) у гипертонических животных показано достоверное увеличение угла наклона волокон по сравнению с нормотоническими (рис. 1а). В области латеральной стенки левого желудочка (20-50% трансмуральной глубины стенки) волокна более круто переходят в субэндокардиальные волокна (рис. 1б). В области задней стенки левого желудочка (30-70% трансмуральной глубины стенки) у нормотонических крыс волокна кольцевого слоя проходят почти параллельно эпикарду, тогда как у гипертонических животных угол достоверно увеличивался (рис. 1в).

В области межжелудочковой перегородки происходит утолщение кольцевого слоя, ориентация миокардиальных волокон практически не изменяется (рис. 1г).

У крыс с экспериментально вызванной реноваскулярной гипертонией происходит утолщение кольцевого слоя на 18%. Возможно, это связано с тем, что повышение нагрузки давлением на левый желудочек приводит к адаптивному увеличению поперечного напряжения, которое зависит от сокращения волокон кольцевого слоя [4].

У крыс с экспериментально вызванной гипертонией показало (рис. 1а) достоверное увеличение угла наклона субэндокардиальных волокон только на передней стенке левого желудочка (5-20% трансмуральной глубины). При гипертрофии левого желудочка реноваскулярного генеза происходит утолщение субэндокардиального слоя на 10%, что приводит к увеличению количества продольно ориентированных волокон по сравнению с нормотоническими животными. Одни авторы показали, что при коарктации брюшной аорты у крыс линии Вистар объем субэндокардиальных миоцитов увеличивается на 25% [3], другие отмечают снижение объемной доли субэндокардиальных миоцитов на 13% [7]. Изменение формы левого желудочка в течение сердечного цикла определяется преобладанием спирального движения продольно и наклонно ориентированных волокон по сравнению с радиальным [1]. Увеличение продольно ориентированных волокон в желудочках сердца крыс при развитии экспериментально вызванной гипертонии связано с необходимостью эффективного сокращения миокарда в условиях перегрузки давлением левого желудочка.

Экспериментально вызванная реноваскулярная гипертония приводит к гипертрофии левого желудочка и межжелудочковой перегородки сердца за счет утолщения кольцевого и субэндокардиального слоев и изменению ориентации волокон кольцевого слоя левого желудочка и межжелудочковой перегородки, волокон субэндокардиального и субэпикардиального слоев на передней стенке левого желудочка.

Выводы. При развитии экспериментально вызванной реноваскулярной гипертонии у крыс выявлено неоднородное увеличение толщин и изменение ориентации волокон разных слоев свободной стенки левого желудочка и межжелудочковой перегородки, связанное с их разным вкладом в процесс сокращения в ответ на повышение давления.

Список литературы

1. Buckberg G.D., Weisfeldt M.L., Ballester M. et al. Left ventricular form and function scientific priorities and strategic planning for development of new views of disease // *Circ.*, 2004. Vol. 110. P. 330-336.
2. Pinto Y.M., Paul M., Ganten D. Lesson from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering // *Cardiovasc. Res.*, 1998. Vol. 39. P. 77-88.
3. Stilli D., Sgoifo A., Macchi E. et al. Myocardial remodeling and arrhythmogenesis in moderate cardiac hypertrophy in rats // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2001. Vol. 280. P. 142-150.
4. Weber K.T., Janicki J.S. The heart as a muscle-pump system and the concept of heart failure // *Am. Heart J.*, 1979. Vol. 98. P. 371-384.
5. Найдич А.М. Структурная неоднородность левого желудочка и ремоделирование: Бюлл. сибир. медицины, 2006. №1. С. 38-45.
6. Сорокин Е.В., Карпов Ю.А. Реноваскулярная артериальная гипертония: диагностика и лечение // *Кардиология*, 2000. №1. С. 3-9.
7. Федосеев В.А., Ломакина Е.Б., Ионина И.А. Морфометрические показатели тканевых компонентов разных слоев миокарда крыс в ранние сроки становления гипертрофии миокарда: Бюлл. эксп. биологии и медиц., 1992. №2. С. 210-211.
8. Фроля В.Г. Роль ремоделирования левого желудочка в патогенезе хронической недостаточности кровообращения // *Кардиология*, 1997. №5. С. 63-70.

Контактная информация:
o.suslonova@cardio.komisc.ru,
тел. (8212)391-451



ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ЧЕРЕПНЫЕ ПАЗУХИ БУЙВОЛОВ

Пользуясь методами краниоскопии, краниографии, краниометрии и фотографии, изучены возрастные экологические и видовые особенности, строение, развитие и формы костей черепа Кавказского буйвола различного пола, возраста и в различные периоды онтогенеза. Установлено, что из костей мозгового отдела черепа лобная и теменная кости развиваются из соединительной костной перепонки; затылочная, клиновидная, височная, решетчатая и крыловидная кости – из хорды; кости лицевого черепа, состоящие из сошника, скуловой, слезной, верхнечелюстной, небной, носовой, раковинной, резцовой костей, развиваются из хорды, а нижнечелюстная и подъязычная кости – из жаберной дуги.

Ключевые слова: буйволы, черепные пазухи, онтогенез.

T.A. PURHANI

Azerbaijan agricultural academy

INFLUENCE OF A WAY OF LIFE OF LIFE OF BUFFALOS ON THEIR CRANIAL BOSOMS

Using methods kranioskopii, kranioqrafii, kranimetrii and photos are investigated age, specific and ecological features, a structure and forms kostey skulls of Azerbaijan buffalo. By research of a skeleton of a head of a various floor and age in različnie the periods ontogenesis it is established: the brain skull consists from frontal and parietal kostey, developing of e cranial membrane and occipital, klinovidnoy, temporal, frellised and krilovidnoy kostey, developing of a chord; the obverse skull consists from sosnika, molar, plaintive, verhnecelostnoy, nebnoy, nosovoy, rakovinnoy, rezuovoy kostey, developing of a chord and nijnecelostnoy and hypoglossal kostey, prevailing development from a branchiate arch.

KEYWORDS: buffalos, cranial bosoms, ontogenesis.

Строение черепа буйвола является результатом экологической приспособленности к условиям окружающей среды (жаркий климат, полудикий и ночной образ жизни, вынужденное пользование по большей части грубыми кормами, бои с дикими животными с целью самосохранения, частые погружения в воду для спасения от сильной жары, эктопаразитов и т.д.)

Нормальное развитие черепных пазух придает голове животного легкость, широту и силу, что очень важно для образа жизни буйволов.

Кроме этого, согревание вдыхаемого воздуха, обоняние, предохранение от холода органов, расположенных в черепной полости, устойчивость и сила головы во время боя, и вместе с тем, выполнение других функций, связанных с полудиким, гидрофильным и ночным образом жизни в течение долгих лет способствовали развитию и формированию нынешней формы черепных пазух. Возможно, черепные пазухи в жизненных процессах играют более важную роль, чем мы думаем. В любом случае эти признаки и функции жизненно необходимы буйволам.

Поэтому мы решили, что этапы возникновения, уровень расположения и взаимосвязь между ними подлежат группированию и классификации. По этапам появления черепные пазухи делятся на внутриутробные и послеродовые. Из проведенных исследований мы пришли к тому, что пазухи лба, неба, верхней челюсти, слезные, яблочковые, барабанные, решетчатые, ракушечные и пазухи нижней челюсти начинают формироваться на внутриутробном этапе; пазухи носа, клиновидные, крыловидные, затылочные, межтеменные, височные, роговые пазухи формируются после родов. Известно, что у молодых буйволов нет клиновидных пазух [1, 3]. У монгольских коров пазуха верхней челюсти начинает развиваться в два месяца внутриутробного возраста; лобно-носовая – в шестимесячном, а частно-лобовая – в семь месяцев, тогда как затылочно-теменная, височная и роговая пазухи развиваются в послеродовой период.

Самый интенсивный период роста верхней челюсти у северных оленей приходится на трех-четырёхгодовой возраст.

В. Бирих и Г. Удовин отмечают, что у крупного рогатого скота пазухи верхней челюсти, слезные и яблочковые пазухи, соединяющиеся между собой в гайморовой пазухе, и лобная пазуха формируются внутриутробно в пять месяцев.

Авторы считают, что задняя грань лобной пазухи, лобный гребень определяются внутриутробно в шесть месяцев и с возрастом не изменяется. Но у старых коров лобная пазуха входит сзади внутрь теменных и затылочных костей на 11-12 см в глубину. Таким образом, теменные и затылочные пазухи появляются у старых животных [2].

По своему расположению черепные пазухи делятся на верхние, средние и нижние группы. По полученным нами данным, можно придти к выводу, что барабанные, височные, лобные, носовые, роговые, теменные пазухи находятся в костях, образующих верхнее покрытие черепа; крыловидные, затылочные, барабанные пазухи нижней челюсти находятся в костях, образующих нижнюю кость черепа, относятся к нижней группе; пазухи, находящиеся на среднем уровне, т.е. слезные, яблочковые, ракушечные, решетчатые пазухи верхней челюсти, относятся к средней группе. По вместимости пазухи делятся на большие, средние и маленькие. Пазухи большой вместимости – это лобные, роговые, небные и пазухи верхней челюсти; пазухи малой вместимости – это клиновидные, затылочные, крыловидные; пазухи средней вместимости – все остальные.

У буйволов самая большая пазуха – это лобная, а самая маленькая – клиновидная пазуха.

Что касается связи пазух друг с другом и с носовой полостью, то проведенные исследования показывают, что они непосредственно связаны и с дыхательными путями. Например, лобные, ракушечные, решетчатые и пазуха верхней челюсти непосредственно связаны с носовой полостью, тогда как затылочная, теменная, роговая, носовая, височная пазухи связаны посредством лобной пазухи. Яблочковые, слезные, небные пазухи посредством



верхней челюсти выходят в носовую полость; барабанная, клиновидная, крыловидная, пазуха нижней челюсти посредством специальных отверстий связаны с полостью глотки. Таким образом, связь между воздушными полостями в черепе у буйволов настолько важна, насколько важна их непосредственная связь с дыхательными путями.

У монгольских коров слезная, небная, яблочковая и пазуха верхней челюсти соединяются, а лобно-носовые пазухи соединяются между собой, со слезной, решетчатой и со средним носовым путем. У коров пазуха верхней челюсти сзади соединяется со слезной, а снизу с небной пазухами.

При внимательном исследовании черепных швов у буйволов выявляются связанные с возрастом изменения их форм, увеличение поверхности соединений, вхождение костного отростка между соединенными костями и сравнительно быстрое окостенение, что приводит к их прочности [4].

Учитывая вышеизложенное, мы приводим результаты исследований:

1. Лобно-носовые – слезные швы на утробном этапе бывают арочной формы. Но в связи с возрастом, принимая форму треугольника, они увеличивают шовную поверхность.

2. Соединенные в режущих – носовых – верхне-челюстных, теменно-височных и теменно-лобных швах кости с возрастом все больше срачиваются друг в друга и за счет этого удлиняется линия шва.

3. У буйволов височно-яблочковые швы появляются вдоль отростков, имеющих длину 5 см, тогда как у коров появляются только лишь между кончиками отростков.

4. У буйволов полное окостенение лобно-яблочкового шва происходит в 2-3 года, межнебного шва – в 3-4 года и межлобного шва – в 2 года, тогда как у коров соответственно в 5-6, 6-7 и 4-5 лет, и то не полное окостенение.

5. В отличие от коров у буйволов в височной впадине височные крылья клиновидной кости после крыловидно-

го гребня, отступая назад на 1-1,5 см к височной впадине, образуют теменно-височно-клиновидно-лобный швы.

6. Во внутриутробном периоде ложные межлобные и межнебные швы в связи с возрастом превращаются в шов с зубчиками (настоящий).

7. В связи с возрастом между затылочными-височными и межнебными продольными швами входят дополнительные столбчатые шовные кости.

Вышеуказанные формы изменения швов в разных местах черепа буйвола, связанные с долговременным употреблением грубой пищи и диким образом жизни, привели к увеличению функционального давления на швы, на укрепление соединений костей и тем самым за счет усиления и расширения функций к образованию и переходу признаков в генетический фонд, а затем, с морфологической точки зрения, к фиксации их в черепе.

Формы швов и возрастные изменения у буйволов до конца не исследованы. Но проведены исследования, подтверждающие употребление грубой пищи и ее хорошее усвоение буйволятами по сравнению с телятами. Кавказские породы на 3-5% хорошо переваривают целлюлозу, но учитывая, что 25-30% рациона буйволов составляет грубый корм, то это, с точки зрения экономии, очень полезно и удовлетворяет их запросы.

Список литературы

1. Давиташвили Л.С. Очерки по истории учения об эволюционном процессе МАН. СССР. 1956. С. 275.
2. Бирих В.К., Удовин Г.М. Возрастная морфология крупного рогатого скота: Учебн. пос. Пермь, 1972.
3. Рустамов Р.Б., Бабаев А.Н. Возрастные особенности органов в области головы. Аз. КТА. Гянджа, 1999. С. 11-13.
4. Пурхани Т.А. Экологические и возрастные особенности черепных костей буйволов: Монография. Гянджа, 2003. С. 135.

Контактная информация:
Пурхани Т.А., m.fag08@rambler.ru

УДК 619:615.739:636.22/28

ИЛЬГАР КЕРАМЕТ ОГЛЫ ТАГИЕВ

Азербайджанский научно-исследовательский ветеринарный институт

ВЛИЯНИЕ СМЕСИ ХЛОРИСТОГО КОБАЛЬТА И СЕРНОКИСЛОЙ МЕДИ НА ЭРИТРОГРАММЫ КРОВИ ЯГНЯТ

В статье приведены показатели эритрограммы ягнят в зависимости от возраста и при скармливании микроэлементов. Видовой характер эритрограммы во всех возрастных группах ягнят сохраняется, по мере повышения возраста сокращается время гемолиза и увеличивается правая ветвь эритрограммы. Это свидетельствует о том, что в крови одномесячных ягнят количество молодых эритроцитов выше, а с возрастом оно заметно падает.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: овцы, эритрограмма, кобальт, медь

I.K. TAGIYEV

The Azerbaijan research veterinary institute

INFLUENCE OF A MIX OF CHLORIDE COBALT AND CUPROUS SULPHATE ON ERYTHROGRAMM BLOOD OF LAMBS

Though specific character erythrogramm in all age groups of lambs is kept, in process of increase of age time haemolysis is reduced and the right branch erythrogramm increases. It testifies that in blood of one-monthly lambs quantity young erythrocytes above, and with the years it noticeably falls.

KEYWORDS: sheep, erythrogramm, cobalt, copper

В проблеме физиологии и патологии системы крови определенное значение придаётся качественному составу эритроцитов. При этом большой интерес представляет определение возрастного состава и устойчивости эритроцитов. Поэтому особое место было уделено

изучению взаимосвязи возрастного состава и резистентности эритроцитов.

Известно, что стойкость эритроцитов связана с возрастом клеток. Это предположение неоднократно подтверждено многими учёными, однако имеются и противо-



положные взгляды. Одни авторы стойкость эритроцитов относят за счёт молодых, другие – за счёт старых эритроцитов. В последнее время на примере ретикулоцитов было показано, что молодые эритроциты обладают наибольшей стойкостью [1, 2, 4, 6].

Необходимо отметить, что на основании специальной окраски и обнаружения ретикулоцитов по их точечной или нитчатой субстанции можно определить возраст эритроцитов в кровяном русле только в первые 1-2 дня жизни. В течение остального периода жизни эритроцитов в периферической крови невозможно установить возраст этих форменных элементов на основании микроскопического исследования их морфологического строения.

Тем не менее, выявление возрастного состава эритроцитов имеет большое значение для суждения о степени их регенерации и о характере влияния тех или иных факторов на кровь и кроветворение, о функциональном состоянии кроветворных органов и т.д. [1, 3, 5, 6].

Эритрограммы служат основанием для суждения о возрастном распределении эритроцитов, так как молодые эритроциты обладают более высокой устойчивостью, а по мере старения теряют резистентность и быстрее гемолизируются.

Этот метод исследования позволяет изучить кинетику гемолиза эритроцитов в одной пробе крови и даёт возможность выявить резистентность отдельных групп эритроцитов во времени.

Мы поставили своей задачей изучение показателей эритрограммы у ягнят в зависимости от возраста и при подкормке микроэлементами (кобальт, медь). При этом был использован метод, предложенный И.И. Гительзоном и И.А. Терсковым.

Принцип метода (кислотные эритрограммы), применяемого для исследования распределения эритроцитов по стойкости, заключается в фотоэлектрической регистрации убыли числа эритроцитов в процессе гемолиза, развивающегося под действием кислоты в стабильных условиях.

Материалы и методы исследований. Кинетику гемолиза эритроцитов измеряли при помощи установки, состоящей из фотоэлектроколориметра ФЭК-М и водяного ультратермостата УТ-12.

В фотоэлектроколориметре использовали специальные двустенные кюветы, с рубашкой для циркуляции дистиллированной воды (температура +24°), подаваемой из термостата.

Один из этих кюветов является рабочим – в нём определяется гемолиз, а другой компенсационным – он заполняется дистиллированной водой.

Для отсчёта времени пользовались звонком, который соединён с моторчиком Уорренса, замыкающим контакт один раз в 30 секунд. Гемолитиком служил раствор 0,004 н. соляной кислоты, приготовленной из фиксаля на 0,9%-ном растворе химически чистого хлористого натрия. Физиологический раствор изготовляли каждые 3 дня. Рабочие растворы готовились на бидистиллированной воде нейтральной реакции.

Ход определения: кровь брали из ушной вены (2 капли) ягнят, разводили в 2 мл физиологического раствора и помещали в термостат, где уже заранее находились все предметы и реактивы, используемые для анализа. Приборы нагревали 15-20 минут.

При электрофотоколориметрии пользовались красным светофильтром. Стрелку гальванометра приводили к нулю. Пункт чувствительности гальванометра ставили в положение 1. Левый барабан выводился до показания 0,700 по шкале оптической плотности. При этом стрелка гальванометра уходит далеко от нулевого положения. Из пробирки, находящейся в термостате, набирали кровь и постепенно при перемешивании вводили в рабочую клетку с физиологическим раствором, следя за показаниями гальванометра. Кровь добавляли до тех пор, пока стрелка не приближалась к нулю. Затем пункт чувствительности гальванометра переводили в положение 2, и концентрация эритроцитов окончательно доводилась до стандарта (0,700). После этого шторка осветителя закрывалась. Из кювета пипеткой точно отбирали 2 мл стандартной взвеси эритроцитов, остальные удаляли из кювета при помощи водоструйного насоса. Отобранные 2 мл стандартной взвеси переливали в рабочий кювет и по звонку добавляли точно 2 мл 0,004 н. раствора соляной кислоты в перемешивании, через 30 сек. производили отсчёт оптической плотности по красной шкале левого барабана ФЭК. При этом стрелка гальванометра находилась на нуле.

Наблюдение продолжалось до тех пор, пока оптическая плотность переставала изменяться в течение двух тридцатисекундных интервалов и стрелка гальванометра не отклонялась от нуля, что указывает на полный распад эритроцитов крови.

После этого из кювета удаляли содержимое и трижды промывали его физиологическим раствором. Затем кювет вновь заполняли раствором и производили следующий анализ. Ввиду того, что до сих пор не имеется данных о нормальной эритрограмме у ягнят, нами проводились исследования 70 голов клинически здоровых ягнят обоего пола. Для опыта были взяты четыре возрастные группы: 1 – одномесечные (20 гол.), 2 – двухмесечные (20 гол.), 3 – трёхмесечные (15 гол.), 4 – четырёхмесечные (15 гол.). Полученные данные были обработаны вариационно-статистическим методом (табл. 1).

Результаты исследований. Результаты данных средних распределений эритроцитов по группам стойкости представлены в табл. 1 и 2.

Приведённые в таблицах эритрограммы крови ягнят показали зависимость распределения эритроцитов по стойкости от возраста ягнят.

Гемолиз у одномесечных ягнят (табл. 1 и 2) начинается в среднем через 2 минуты, достигает своего максимума на 5-й минуте и завершается на 7-й минуте. Ширина интервала гемолиза в среднем 5 минут.

В двухмесечном возрасте гемолиз начинается через 2 минуты, а завершается через 6½ минут. Положение максимума гемолиза у этой возрастной группы ягнят наблюдается через 4½ минуты, а ширина интервала гемолиза составляет 4½ минуты (табл. 1). Из сравнения эритрограммы трёхмесечных ягнят с эритрограммами двухмесечных видно, что в общих чертах они совпадают. Закономерное отличие заметно лишь на правой ветви эритрограммы.

Процент высокостойких эритроцитов у трёхмесечных ягнят меньше, чем у двухмесечных. Гемолиз завершается у трёхмесечных ягнят к 6 мин., и ширина интервала гемолиза укорачивается на ½ мин. по сравнению с



Средние эритрограммы у здоровых ягнят

Возрастные группы	% эритроцитов	Группы стойкости (минуты гемолиза)													
		0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7
Одномесячные	M	3,4	2,6	2,5	2,5	3,1	4,5	7,8	11,8	17,7	20	14	7,0	2,6	0,5
	m	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,4	0,8	0,9	0,8	0,7	1,0	0,9	0,5	0,1
	σ	0,5	0,5	0,5	0,6	0,8	1,6	3,4	3,9	3,5	3,3	4,4	3,9	2,3	0,4
Двухмесячные	M	3,8	3,3	2,7	2,9	4,1	6,6	10,2	16,1	21,7	17,6	8,1	2,4	0,5	
	m	0,2	0,1	0,2	0,3	0,5	0,6	0,7	1,0	0,8	1,3	1,3	0,6	0,2	
	σ	0,8	0,6	0,8	1,1	2,2	2,9	3,0	4,6	3,8	5,8	5,7	2,0	0,4	
Трёхмесячные	M	3,3	3,2	3,1	3,4	5,6	8,4	12,2	18,5	22,8	14,8	4,2	0,5		
	m	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,6	0,8	0,9	0,9	1,6	0,7	0,1		
	σ	0,4	0,5	0,7	0,8	1,6	2,2	2,9	3,3	3,6	6,2	2,8	0,3		
Четырёхмесячные	M	3,6	3,6	3,6	4,8	7,7	10,7	15,6	23,2	19,1	7,1	1,0			
	m	0,2	0,2	0,5	0,7	1,0	1,2	1,1	2,4	2,4	1,5	0,3			
	σ	0,5	0,7	1,4	2,3	3,4	3,4	3,8	3,6	7,6	4,5	0,8			

Таблица 2

Средний расчёт эритрограммы крови здоровых ягнят одномесячного возраста (n=20)

Время, минуты	Оптическая плотность	Разница оптических плотностей	% эритроцитов	Сумма нарастающих процентов
0,5	0,423	0,013	3,3	3,3
1,0	0,410	0,022	2,8	6,1
1,5	0,399	0,009	2,3	8,4
2,0	0,390	0,010	2,6	11,0
2,5	0,380	0,012	3,1	14,1
3,0	0,368	0,018	4,6	18,7
3,5	0,350	0,031	7,9	26,6
4,0	0,319	0,046	11,8	38,4
4,5	0,273	0,069	17,6	56,0
5,0	0,204	0,078	19,9	75,9
5,5	0,126	0,055	14,1	90,0
6,0	0,071	0,027	6,9	96,6
6,5	0,044	0,010	2,6	99,5
7,0	0,034	0,002	0,5	100,0
7,5	0,032	0,000		
8,0	0,032			

двухмесячными ягнятами (табл. 1). Некоторые отличия наблюдались в эритрограммах у четырёхмесячных ягнят по сравнению с эритрограммами предыдущих возрастных групп, а именно: гемолиз начинается в среднем через 1½ мин., достигая своего максимума на 4-й мин. и завершается на 5½-й мин. (табл. 1).

Таким образом, можно отметить, что у ягнят в зависимости от возраста начало гемолиза, положение максимума и окончание гемолиза несколько колеблются. По-видимому, эти колебания связаны с особенностями растущих животных.

На основании изложенного можно прийти к нижеследующим выводам:

1. При эритрограммных исследованиях у одномесячных, двухмесячных и трёхмесячных ягнят гемолиз начинается в среднем через 2 мин., а у четырёхмесячных – через 1½ мин.

2. Положения максимума гемолиза эритроцитов у одномесячных ягнят наблюдаются на 5-й мин., у двух- и трёхмесячных – на 4½-й мин., а четырёхмесячных ягнят – на 4-й мин.

3. Завершение гемолиза эритроцитов у одномесячных ягнят происходит на 7-й мин., у двухмесячных – на 6½ мин., у трёхмесячных – на 6-й мин., и у четырёхмесячных – на 5½ мин.

Хотя видовой характер эритрограммы во всех возрастных группах ягнят сохраняется, по мере повышения возраста сокращается время гемолиза и увеличивается правая ветвь эритрограммы. Это свидетельствует о том, что в крови одномесячных ягнят количество молодых эритроцитов выше, а с возрастом оно заметно падает.

Список литературы

1. Гаджиев Ф.М. Влияние кобальта на функцию кроветворных органов в условиях фенилгидразиновой анемии при различных состояниях центральной нервной системы: Мат. Всесоюз. симпозиума «Микроэлементы и нервная система». Баку, 1966.
2. Дадашев Ч.Н. Микроэлементы – это прибавка баранины и шерсти // Овцеводство. №6. М., 1995.
3. Кузнецов А.Ф. Справочник ветеринарного врача. М.: Лань, 2002.
4. Тагиев И.К. Нарушение химической экологии почвы // Ветеринария. Баку, 2009.
5. Эюбов И.З. Биогеохимическая характеристика Гобустанской степи // Вестник с.-х. науки Азерб., №2, 1972.
6. Baltzer A.C., Kilhan B.J., Duncan C.W., Huffman C.F. A cobalt deficiency disease observed in some Michigan dairy cattle quarterly bull, 2001. 24.1.

Контактная информация:
Тагиев И.К. m.fag08@rambler.ru



МОРФОДИНАМИКА РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ У СОБАК В УСЛОВИЯХ ЧРЕСКОСТНОГО ОСТЕОСИНТЕЗА

При стабильной чрескостной фиксации стержневым аппаратом ткани претерпевают менее выраженные изменения и восстанавливаются в более короткие сроки. Это обусловлено сохранением кровоснабжения кости и степенью травматизации при оперативном вмешательстве.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: собака, перелом, репаративная регенерация, чрескостный остеосинтез.

F.V. SHAKIROVA

Kazan state academy of veterinary medicine named N.A. Bauman

MORPHODYNAMICS OF BONE TISSUE REPARATIVE REGENERATION IN DOGS UNDER TRANSOSSEOUS FIXATION

At stable transosseous fixation with a rod device the tissues undergo less expressed changes and require less time for the rehabilitation. This is caused by preserved blood supply of bone and less traumatic operation.

KEYWORDS: dog, fracture, reparative regeneration, transosseous osteosynthesis.

При переломах травмированный участок представляет собой сильный очаг раздражения, который, постоянно воздействуя на нервную систему, вызывает ее функциональное истощение и влечет за собой целый ряд расстройств местного и общего характера [2]. Течение послеоперационного периода определяется условиями, при которых они происходят [4-5]. В условиях чрескостной фиксации сращение костных отломков происходит в более короткие сроки [3].

В репаративной регенерации поврежденных тканей опорно-двигательного аппарата определяющей ролью являются условия, при которых они происходят. Костная ткань обладает значительным регенерационным потенциалом. В основе костного вещества лежит соединительная ткань, обладающая высокой пластичностью. Между костными фрагментами при повреждении кости формируется грануляционная ткань, но степень ее развития различна [5].

Целью наших исследований было изучение морфодинамики репаративной регенерации костной ткани в зоне перелома.

Материалы и методы. Объектом исследования служили 50 собак с переломами костей голени. Животные подбирались по принципу аналогов. Масса подопытных животных составляла в среднем 15-30 кг, возраст от 1 года до 3,5 лет. Всем животным была проведена операция – чрескостный остеосинтез аппаратом внеочаговой фиксации.

Клиновидно выпиливали кость (верхний кортикальный слой), в зоне перелома и прилегающей к ране области проводили на 1, 5, 10, 20 и 30-е сутки после операции. Полученный материал фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине. Декальцинацию проводили в растворе Рихмана–Гельфанда–Филла. После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле

заливался в парафин. На микротоме изготавливались гистологические срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином и по методу Ван-Гизона. Морфометрию изучаемых структур осуществляли по методике Г.Г. Автандилова (1990) [1].

Результаты исследований.

1 сутки. Между отломками образуется гематома, в ряде случаев обширная, с отложением фибрина и наличием фрагментов некротизированной кости.

Имеется более или менее обильная лейкоцитарная инфильтрация. Жир костного мозга располагается в гематоме в виде крупных капель. Костный мозг отломков пропитан кровью, так же как и некоторые гаверсовы каналы. Имеет место выраженный травматический отек. Сосуды полнокровны и гиперемированы как в центральном, так и в периферическом отломках.

5 сутки. На границе перелома отмечается пролиферация мезенхимальных клеток и их врастание в кровяной сверток между отломками. Происходит организация гематомы с сохранением лишь узкой щели между отломками компактной пластинки, которая заполнена тканевым детритом. Сохраняется клеточная инфильтрация с преобладанием макрофагальных элементов. Краевая зона обоих отломков кости некротизируется. Находящиеся здесь клетки перестают воспринимать ядерную окраску и распадаются. Вследствие этого полости остецитов выглядят пустыми. Начинает формироваться предварительная соединительнотканная мозоль, которая соединяет отломки и охватывает их в виде муфты. На данном этапе она состоит из молодых мезенхимальных клеток, расположенных между сосудистыми петлями, т.е. идентична по своему строению грануляционной ткани.

Наряду с вновь образованными сосудами и мезенхимальными клеточными элементами здесь обнаружива-

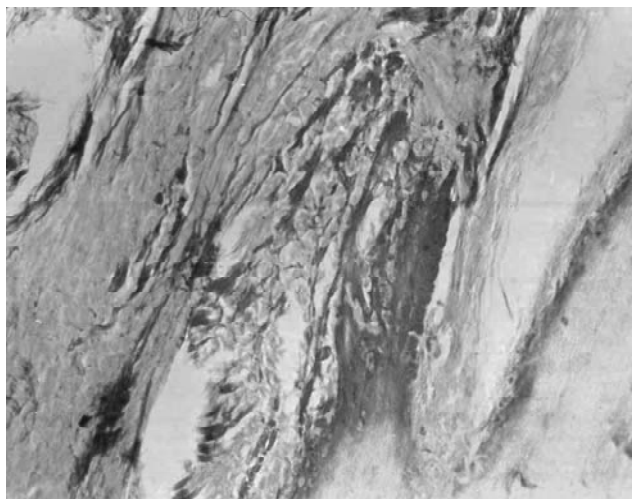


Рис. Гомогенизация коллагена и образование остеидных балок.
10-е сутки после перелома. Окраска по Ван-Гизону. X200

ются и остеобласты, в ряде случаев с тенденцией к образованию трабекулярных структур.

10 сутки. На данном этапе имеется полностью сформированная предварительная соединительнотканная мозоль, которая трансформируется в предварительную костную мозоль из грубоволокнистой кости. Происходит разрастание коллагеновых волокон и наблюдаются процессы костеобразования. Так, на фоне гомогенизации коллагена образуются остеидные балки (рис.).

При этом обнаруживаются пролиферирующие остеобласты как в зоне повреждения, так и в периосте и эндосте. Параллельно с этим идет процесс рассасывания некротически измененных концов старой кости и избытка вновь образованных остеидных структур. Данную функцию выполняют остеокласты с образованием так называемых ячеек рассасывания. Коллагеновые волокна, как правило, соединены с костными балками, в некоторых из которых уже обнаруживается обызвествление. Здесь же расположены сосудистые петли. Пространство между балками и сосудами заполнено рыхлой волокнистой соединительной тканью. Вновь образованные костные балки всегда связаны со старой костью (краями отломков). В единичных случаях в периостальной части мозоли костеобразование протекает через образование хряща. По краям отломков кости на данном сроке завершается рассасывание некротических масс, происходит разрастание грануляционной ткани с последующим остеогенезом. В гаверсовы каналы отломков врастают сосуды и мезенхимальные клетки. Между отдельными костными балками появляются поперечные перемычки. Некоторые костные структуры смыкаются своими периферическими концами, образуя первичные гаверсовы каналы, заполненные волокнистой тканью и капиллярами.

20 сутки. Имеется полностью сформированная предварительная костная мозоль, представленная грубоволокнистой костью, которая на большинстве участков соединяет оба отломка. В отдельных случаях можно наблюдать начальные признаки трансформации костной ткани в окончательную костную мозоль.

В костном мозге каждого отломка развиваются новые костные трабекулы. В случаях, когда в процессе

заживления перелома образовывалась хрящевая ткань, на данном этапе происходит рассасывание хряща, обызвествление и замещение его костной тканью – энхондральная оссификация.

30 сутки. В большинстве случаев имеет место несложное заживление с началом формирования пластинчатых костных структур. В то же время окончательной перестройки костной мозоли не происходит – наружная ее часть в той или иной степени сохраняется. Из ее внешних слоев формируется периост, сливающийся с периостом отломков. Внутренняя мозоль рассасывается с восстановлением костного мозга.

Заключение. Успеха в решении вопроса репаративной регенерации можно достигнуть только при комплексном воздействии на различные звенья процесса, который включает два вопроса: 1) создание оптимальных условий для регенерации; 2) более быстрая нормализация общепатологических сдвигов путем дополнительного введения пластических и энергетических ресурсов, в которых организм остро нуждается в этот период.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство. М., 1990. 384 с.
2. Демьянов В.М., Кулик В.И., Карацов В.И. Особенности обезвреживания отломков при множественных и сочетанных диафизарных переломах длинных трубчатых костей // Ортопедия, травматология и протезирование, 1982. № 3. С. 9-13.
3. Копысов В.А. Комбинированный остеосинтез длинных трубчатых костей // Ортопедия и травматология, 1993. № 2. С. 68-69.
4. Попков А.В., Осипенко А.В. Регенерация тканей при удлинении конечностей: Руководство. М., 2008. С. 6-10.
5. Слущкий Л.И., Домбровская Л.Э. / В кн.: «Ортопедия»: Науч. труды Рижского ин-та травматологии и ортопедии. Рига, 1976. Т.14. С. 183-193.

Контактная информация:
Шакирова Н.Ф. e-mail:
shakirova-fv@yandex.ru



НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЕ ЛОВУШКИ

Апробирован экспресс-метод обнаружения нейтрофильных внеклеточных ловушек, представляющих внеклеточно выбрасываемые сети волокон нитей ДНК нейтрофильными гранулоцитами. Для визуализации нейтрофильных ловушек использована окраска акридиновым оранжевым, позволяющая выявить не только ловушки, но и другие микробицидные свойства нейтрофильных гранулоцитов.

V.B. BORISEVICH, B.V. BORISEVICH, V.A. DOROSHUK, S.M. TKATHENKO, D.Ju. LITVINENKO

National university of bioresources and wildlife management of Ukraine.

EXTRA CELLULAR TRAPS OF NEUTROPHYLS

The detection express method of neutrophil extracellular traps representing extracellular thrown out networks of fibres of threads of DNA neutrophilic granulocytes is approved. For visualisation neutrophil traps colouring acridine orange is used, allowing to reveal not only traps, but also others bactericidal action properties neutrophilic granulocytes/ neutrophilic granulocytes, neutrophil extracellular traps, acridine orange.

Среди различных антимикробных свойств нейтрофильных гранулоцитов в последнее время привлекает к себе внимание их способность образовывать внеклеточные сети нуклеиновых кислот и ферментов для улавливания и обезвреживания микроорганизмов (так называемые нейтрофильные ловушки) [1, 2, 3]. Это новое направление в изучении антиинфекционных свойств животного организма.

Цель работы – выявить наличие экстрацеллюлярных нейтрофильных ловушек у свиней.

Материал и методы. Для визуализации нейтрофильных ловушек применили окраску акридиновым оранжевым, специфически взаимодействующим с ДНК [5], что значительно упрощает проведение качественной и количественной оценки.

Учитывая, что акридиновый оранжевый окрашивает ядерное вещество нейтрофильных гранулоцитов в зеленый цвет, данный краситель оптимально подходит для выявления внеклеточно расположенной сети волокон гранулоцитарной ДНК.

Выявление нейтрофильных ловушек проводили в пробах венозной крови, стабилизированной гепарином (10–15 ЕД/мл гепарина), которую с целью осаждения эритроцитов отстаивали в стерильной пробирке при +37°C в течение 30 минут. Нейтрофилы выделяли из лейкоцитарной взвеси на двойном градиенте плотности стерильных растворов фикол-верографина. Плотность верхнего слоя градиента составляла 1,075–1,077, а нижнего – 1,093–1,095. Объем каждого градиента 1,5 мл. Через 40 минут центрифугирования при 1500 об./мин. на границе между градиентами появлялось кольцо гранулоцитов с чистотой 98–99%. Кольцо нейтрофилов осторожно собирали и переносили в стерильные центрифужные пробирки, трижды отмывали от градиента стерильным изотоническим раствором хлорида натрия центрифугированием при 1500 об./мин. на протяжении 10 минут и доводили до концентрации 5×10^6 кл./л.

Полученную взвесь клеток инкубировали при +37°C на протяжении 30 минут в присутствии 0,1 мл взвеси частиц латекса, суточной культуры контрольных штаммов различных микроорганизмов (*S. aureus* 209, *E. coli*

М-17), *Lactobacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., доведенных до концентрации 1 млрд микробных тел в 1 мл (по стандарту мутности) на 1 мл взвеси нейтрофилов, разведенной в 10 раз, или смеси бактерий с содержанием 10^8 *Lactobacterium* spp., 10^8 *Bifidobacterium* spp., 10^2 *S. aureus*, 10^2 *E. coli* КОЕ в 1 мл на 1 мл взвеси нейтрофилов. Для контроля использовали взвесь нейтрофилов, которые инкубировали при тех же условиях, но без активатора.

Для окрашивания нейтрофильных ловушек использовали 200 мкл рабочего раствора акридинового оранжевого в изотоническом растворе натрия хлорида (концентрация 2 мкг/мл). Учет проводили при помощи люминесцентного микроскопа при увеличении $100 \times 10 \times 1,5$, используя фильтры, пропускающие свет с длиной волны не более 490 нм и эмиссией с длиной волны 520 нм. При этом сегментированные ядра нейтрофилов окрашиваются в ярко-зеленый цвет, цитоплазма гранулоцитов не окрашивается; клетки с недифференцированным ядром приобретают зеленый цвет, причем невозможно различить ядро и цитоплазму; нейтрофильные ловушки имели вид тонких ярко-зеленых нитей, величина которых в 2–2,5 раза была большей, чем величина нейтрофила; бактерии-активаторы окрашивались в ярко-оранжевый цвет.

В активированном после взаимодействия с бактериями нейтрофильном гранулоците разрушается ядерная мембрана, цитоплазматические гранулы растворяются, а формирующиеся компоненты ловушки располагаются по всему объему клетки, после чего клетка сокращается до тех пор, пока не лопнет её мембрана, а высокоактивная смесь быстро выбрасывается наружу, образуя своеобразную сеть, в которую попадают бактерии (рис.) [6].

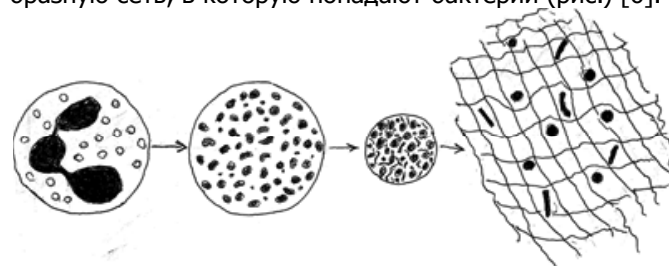


Рис. Схема образования нейтрофильных ловушек



Окрашивание акридиновым оранжевым фиксированных мазков дает возможность провести качественную и количественную оценку ранних стадий преформации нейтрофилов в процессе синтеза ловушек. При этом принято различать три группы структур: 1-я группа включает клетки с сегментированным ядром, 2-я группа содержит клетки с недифференцированным ядром, 3-я группа – это свободно расположенные ярко-зеленые волокна сетчатореформированной ДНК нейтрофила (нейтрофильные лопушки). Методом подсчета 100 структур каждой из групп определяли процентное содержание каждой структуры. Также оценивали активность и интенсивность поглощения микроорганизмов неизменными нейтрофилами и показатель попадания бактерий-активаторов в нейтрофильные лопушки, так как существует четкий контраст между нейтрофилами и их ловушками, которые окрашиваются в зеленый цвет, и оранжево окрашенными бактериями. Подсчитывали: а) активность фагоцитоза – количество нейтрофилов с сегментированным ядром, содержащих в цитоплазме бактерии; б) интенсивность фагоцитоза – число бактерий в 100 нейтрофильных гранулоцитах с сегментированным ядром в пересчете на 1 клетку; в) количество нейтрофильных ловушек с бактериальными клетками на 100 подсчитанных структур; г) индекс нейтрофильной лопушки – число бактерий в 100 подсчитанных ловушках в пересчете на 1 ловушку.

Результаты исследований. Изучено 70 препаратов, из которых 10 содержали нейтрофилы без активатора (контроль) и 6 групп по 10 мазков, приготовленных из взвеси нейтрофилов, активированных частицами латекса *S. aureus*, *E. coli*, *Lactobacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.* и смесью этих бактерий.

После 30-минутной инкубации при 37°C без индуктора было выявлено 58±1,73% непереформированных нейтрофилов. Частицы латекса и бактериальная смесь не влияли на этот показатель. Получасовая активация нейтрофилов *S. aureus* 209, *E. coli* M-17, *Lactobacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.* значительно снижали количество сегментоядерных клеток в опыте (42,2±1,87%). В контроле выявлено 24,5±2,05% клеток с несегментированным ядром. При действии частиц латекса, бифидобактерий или бактериальной ассоциации отмечается тенденция к снижению данного показателя.

Содержание внеклеточных ДНК-ловушек в контроле составило 16±1,25%. Любой активатор увеличивал количество экстрацеллюлярных ловушек, однако микробные агенты более активно стимулировали выпускание сетей волокон ДНК (21,5±1,83%); максимальные изменения наблюдали под влиянием бифидобактерий (48,5±1,38%).

Таким образом, установлено, что латекс не влияет на морфологические преобразования нейтрофилов, связанные с выпуском нейтрофильных сетчатых ловушек, а разнообразные бактерии стимулируют образование нейтрофильных внеклеточных ловушек; наиболее активно данный процесс запускают представители нормофлоры – бифидобактерии.

Нейтрофилы активно фагоцитировали частицы латекса, *S. aureus*, *E. coli*, в меньшей мере процент фагоцитирующих клеток определялся при взаимодействии с лакто-, бифидобактериями и с ассоциацией исследованных штаммов. Практически все внеклеточные ловушки

нейтрофилов задерживали как частицы латекса, так и бактерии, при этом микроорганизмы, находящиеся в ассоциациях, реже обнаруживались в сетях ловушек.

Исследованиями [4] установлено, что агрессивные факторы гранул нейтрофила, секретируемые во внеклеточное пространство, связаны нитями ДНК нейтрофильной ловушки. При этом они не вызывают развитие воспалительных изменений в тканях и не проявляют повреждающего действия на клетки слизистых оболочек при их колонизации представителями нормофлоры [1].

Сравнительная эффективность фагоцитоза и нейтрофильных ловушек была определена после оценки интенсивности фагоцитоза и подсчета частиц латекса, *S. aureus* 209, *E. coli* M-17, *Lactobacterium spp.* и *Bifidobacterium spp.* в ловушках в перерасчете на 1 клетку (индекс ловушки).

Поглотительная способность фагоцита была более выражена по отношению к частицам латекса (7,42±0,58 м.к. на 1 фагоцит) и золотистого стафилококка (8,38±0,95 м.к. на 1 фагоцит); в меньшем количестве поглощалась кишечная палочка, лакто- и бифидобактерии. Интенсивность фагоцитоза микроорганизмов в ассоциациях была незначительной (0,73±0,08 м.к. на 1 фагоцит). Количество задержанных объектов в одной ловушке в 2–2,7 раза превышало количество фагоцитозанных агентов.

Выводы

1. После 30-минутного взаимодействия с микробными и немикробными агентами нейтрофильные гранулоциты образуют внеклеточные сетчатые структуры, так называемые нейтрофильные ловушки (содержат ДНК), которые отчетливо визуализируются при окраске фиксированных мазков акридиновым оранжевым.

2. По своим размерам нейтрофильные ловушки в 2–2,5 раза превышают размеры фагоцитов.

3. Нейтрофильные ловушки способны более эффективно, чем живая клетка, улавливать как частицы латекса, так и любые бактерии.

4. Представители нормофлоры активно стимулируют продуцирование экстрацеллюлярных ловушек, которые являются одним из важных механизмов антимикробной защиты.

Список литературы

1. Роль нейтрофилов в регуляции микробиоценоза влагалища женщин: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 2005. 19 с.
2. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург: Изд. УрОРАН, 2001. 183 с.
3. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: метод обнаружения и оценка эффективности улавливания бактерий // Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунологии, 2009. № 2. С. 65-67.
4. Некоторые вопросы современного учения о полиморфноядерных лейкоцитах // Архив патологии, 1988. № 8. С. 85-90.
5. Neutrophil extracellular traps kill bacteria // Science, 2004, 303: 1532-1535.
6. Novel cells death program leads to neutrophil extracellular traps // J. Cell. Biol., 2007, 176 (2): 231-241.

Контактная информация:
rectorat@nauii.kiev.ua



ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК, ПОДОБНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫМ МЕЗЕНХИМНЫМ СТРОМАЛЬНЫМ КЛЕТКАМ, ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ КОСТНОГО МОЗГА ОВЦЫ

Получены популяции клеток, подобные мультипотентным мезенхимным стромальным клеткам (ММСК), выделенным из костного мозга шести половозрелых баранов. Выделенные клетки были размножены, охарактеризованы морфологически, а также оценены по экспрессии поверхностных антигенов (CD44, CD31, CD45, HLA DR и DQ) посредством проточной цитофлуориметрии. Были проанализированы их потенции к цитодифференцировке.

Охарактеризованные нами клетки могут быть использованы для создания костных трансплантатов при проведении предклинических испытаний и в дальнейшем для лечения высокопродуктивных и представляющих высокую ценность для разведения сельскохозяйственных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мультипотентная мезенхимная стромальная клетка костного мозга овцы, экспрессия поверхностных маркеров, цитодифференцировка.

E.I. KULNEVA, D.A. DEVRISHOV, A.S. TEPLYASHIN, S.V. KORZHIKOVA

SLL «Beauty Plaza», Moscow

CHARACTERISTICS OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELL-LIKE CELLS ISOLATED FROM THE OVINE BONE MARROW

MMSCs-like cells populations were obtained from bone marrow of six mature sheep. Isolated cells were cultivated and morphologically characterized; the expression of surface antigen (CD44, CD31, CD45; HLA DR, DQ) was evaluated with cytometry analysis. The potential of these cells to cytodifferentiation was analysed. These cells can be used for bone transplant formation in preclinical trials, and, later on, for bone defects treatment of highly productive and pedigree cattle.

KEYWORDS: multipotent mesenchymal stromal cell from ovine bone marrow, surface markers expression, cytodifferentiation.

Введение. Впервые ММСК были описаны А. Фриденштейном в 60-х годах прошлого века. Он не только описал простой способ выделения фибробластоподобных клеток из костного мозга, который до сих пор является ключевым в существующих методах выделения ММСК, но и полностью охарактеризовал эти клетки [1]. ММСК были выделены из тканей различных животных. Известны данные о выделении и описании ММСК крысы [2], свиньи [3], кролика [4] и лошади [5].

С появлением множества работ по выделению и изучению свойств ММСК возникли различные неточности в терминологии и определении этих клеток, что было связано с применением различных методик по выделению, культивированию и с различными подходами к их характеристике. В связи с чем Международное Общество Клеточной Терапии (ISCT) предложило ряд минимальных признаков, которыми должны обладать выделенные мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (ММСК) [6]. Согласно этому предложению ММСК должны обладать адгезией к пластику и не должны экспрессировать антигены гемопоезического ряда, а также молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-DR. И наконец эти клетки должны обладать потенцией к цитодифференцировке в остеобласты, адипоциты и хондробласты *in vitro*.

Несмотря на то, что наиболее распространенным объектом для проведения предклинических испытаний по восстановлению костной ткани на крупных животных являются особи мелкого рогатого скота, в частности,

бараны и овцы, их мезенхимные стволовые клетки, выделенные из костного мозга, недостаточно охарактеризованы. В данной работе мы выделили и охарактеризовали клетки, подобные мультипотентным мезенхимным стромальным клеткам, из костного мозга овцы.

Материалы и методы. Аспират костного мозга получали от половозрелых баранов романовской породы методом пунктирования гребня подвздошной кости. Полученные пробы костного мозга собирали в пробирки с LiHe (Sarstedt), затем разбавляли в 4 раза физиологическим раствором, забуференным фосфатами (ФСБ). После фильтрования через 70-мкм фильтр (BD), клетки центрифугировали при 400g в течение 10 мин. для получения осадка. Основной средой для культивирования была среда ДМЕМ с низким содержанием глюкозы (1 г/л) фирмы Gibco, дополненная 10% сыворотки плода коров (СПК) NuClone фирмы Perbio, однократным раствором незаменимых аминокислот (Gibco) и антибиотиками (Gibco). Морфологическую характеристику клеток проводили визуально. Оценку проводили как в нативных препаратах, так и окрашенных по Гимза. Митотический индекс для каждой популяции клеток рассчитывали в фазе логарифмического роста как отношение числа митозов к общему количеству подсчитанных клеток (не менее 1×10^6), умноженное на 100 (в %).

Клетки анализировали методом проточной цитофлуориметрии на цитометре Beckman Coulter. Первичные мышинные антитела (Ат) были против антигенов овцы: CD44, CD31, CD45, HLA DR, HLA DQ (Becton Dickinson).



Уровень экспрессии поверхностных антигенов одной случайно выбранной популяции выделенных из костного мозга овцы ММСК

CD31	1%	CD44	97,8%	CD45	0,6%	HLADQ	0,6%	HLADR	3,2%

В качестве вторичных антител использовали козьиные антимышьи IgG антитела, меченые PE той же фирмы.

Среды для цитодифференцировки

Средой для дифференцировки в остеобласты была ДМЕМ, дополненная СПК (10%), дексаметазоном (10^{-7} М), β -глицерофосфатом (10 мМ) и аскорбиновой кислотой (0,2 мМ). Через 28 суток клетки окрашивали красителями по von Kossa и Alizirin Red S. Средой для дифференцировки в адипоциты была стандартная среда для адипогенной дифференцировки ММСК костного мозга человека, в разработанной нами модификации. Специфическая окраска липидных включений осуществлялась путем окрашивания специфическим красителем Oil Red O.

Результаты и их обсуждение. В первичной культуре уже на 2-е сутки наблюдались изолированные друг от друга отдельные клетки или небольшие группы клеток, а на 5-6-е сутки наблюдалось выраженное клонообразование, характерное для ММСК (рис. 1). Монослой можно было наблюдать уже на 9-10-й день культивирования. Клетки имели фибробластоподобную форму, гомогенную цитоплазму, низкое ядерно-цитоплазматическое соотношение, смещенное к периферии овальное ядро, с 4-6 хорошо различимыми ядрышками. Размер клеток составлял 18-20 мкм.

В фазе логарифмического роста был произведен подсчет митотического индекса и определено время цитогенерации, которое составило 38-42 часа. Культура выделенных клеток характеризовалась высоким митотическим индексом – 60%.

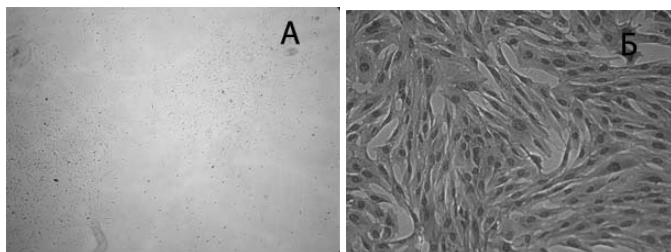


Рис. 1. А – колонии ММСК, выделенных из костного мозга овцы, на 6-е сутки культивирования (Фазовый контраст, X40); Б – монослой популяции ММСК, окраска Гимза (X200)

В таблице представлены результаты цитометрического анализа поверхностных антигенов, экспрессируемых ММСК костного мозга.

Этот анализ показал, что выделенные клетки обладают фенотипом ММСК, и не экспрессируют маркеры эндотелиальных клеток (CD31) и клеток кровяного ряда (CD45), а отсутствие экспрессии молекул второго комплекса гистосовместимости указывает на потенциальную возможность использования данных клеток в

различных предклинических испытаниях и разработок методов лечения некоторых заболеваний овец.

Для подтверждения потенциала клеток к цитодифференцировке в клетки мезодермального происхождения был проведен анализ *in vitro*. На рис. 2 представлены результаты окраски по von Kossa и ализариновым красным С. Эффективность остеодифференцировки составила 90-95%.

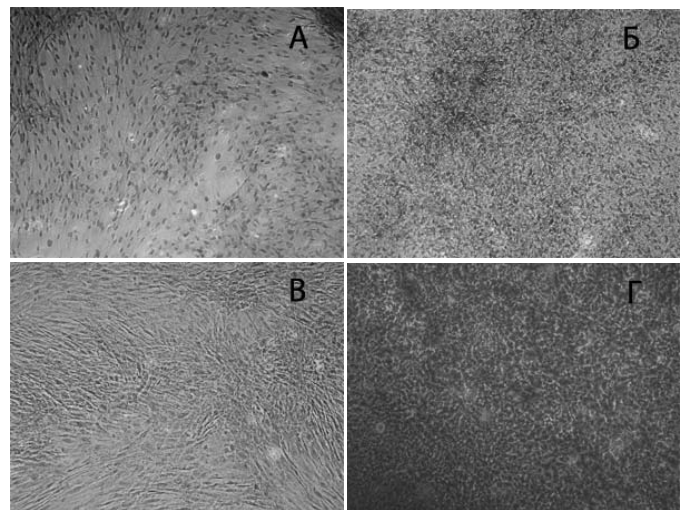


Рис. 2. Направленная остеодифференцировка ММСК костного мозга овцы, окраска по von Kossa (X100) (А и Б). А – контроль; Б – остеодифференцировка; В и Г – окраска Alizarin Red (X100); В – контроль; Г – остеодифференцировка

После внесения индукторов адипогенной дифференцировки в среду для культивирования, уже на 3 неделю наблюдалось накопление липидных включений, специфично окрашивающихся Oil Red, в 30-40% клеток.

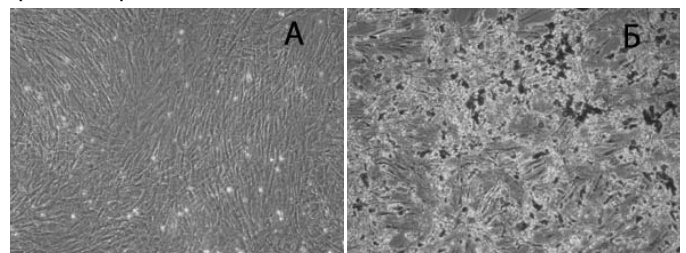


Рис. 3. Направленная адиподифференцировка ММСК костного мозга овцы.

Окраска Oil Red (X100). А – контроль. Б – адиподифференцировка

Таким образом, из костного мозга половозрелых баранов нами была выделена популяция клеток, обладающих морфологией и фенотипом ММСК. Полученная культура состояла из клеток, обладающих высокой адге-



Хирургия

зией к культуральному пластику, фибробластоподобной морфологией и способностью к клонобразованию. Эти клетки экспрессировали CD44 (главный поверхностный гликопротеин, присутствующий на всех ММСК), и не экспрессировали маркеры эндотелиальных клеток и клеток кроветворного ряда, CD31 и CD45 соответственно. Кроме того, не наблюдалась экспрессия молекул второго класса комплекса гистосовместимости HLA DR и HLA DQ. Эти клетки обладают способностью к цитодифференцировке в клетки мезенхимного происхождения, остеобласты и адипоциты. Совокупность этих свойств и характеристик клеток выделенной популяции дает основания охарактеризовать их как мультипотентные мезенхимные стромальные клетки костного мозга, что представляет большой интерес для тканевой инженерии и регенеративной медицины. Использование таких охарактеризованных клеток позволит более точно проводить предклинические испытания аллогенных ММСК на модели мелкого рогатого скота и сделает возможным развитие новых методов лечения высокопродуктивных и представляющих высокую ценность для разведения сельскохозяйственных животных.

УДК 636.3:612.419.014.2

Е.И. КУЛЬНЕВА, С.В. КОРЖИКОВА, А.С. ТЕПЛЯШИН, Д.А. ДЕВРИШОВ

ООО «Бьюти Плаза», Москва

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДИПОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ММСК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОСТНОГО МОЗГА ОВЦЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СРЕД С РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ИНДУКТОРОВ

Ранее нами были охарактеризованы мультипотентные мезенхимные стромальные клетки, выделенные из костного мозга овцы. Эти клетки обладали фибробластоподобной морфологией и экспрессировали CD44, но не CD31, CD45 и HLA DR, DQ. Кроме того, эти клетки обладали способностью к цитодифференцировке в клетки мезенхимного происхождения, остеобласты и адипоциты. В данной работе мы выбрали концентрацию индукторов для наиболее эффективной адипогенной цитодифференцировки выделенной культуры ММСК.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мультипотентная мезенхимная стромальная клетка костного мозга, цитодифференцировка, индукторы адипогенной дифференцировки.

E.I. KULNEVA, S.V. KORZHIKOVA, A.S. TEPLYASHIN, D.A. DEVRISHOV

Beauty Plaza, Moscow

THE EFFECTIVE ADIPOGENIC DIFFERENTIATION OF MMSCS ISOLATED FROM OVINE BONE MARROW AFTER TREATMENT WITH MEDIA CONTAINING INDUCTORS IN DIFFERENT CONCENTRATIONS

We have already characterized multipotent mesenchymal stromal cells isolated from ovine bone marrow. These cells had a fibroblastic-like morphology and expressed CD44, but not CD31, CD45 and HLA DR, DQ. Besides, these cells had a potential for differentiation into mesenchymal cell lines, osteoblasts and adipocytes. In this study we have selected the most suitable concentration of inductors for the most effective adipogenic differentiation of isolated MMSC.

KEYWORDS: bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells, differentiation, inductors of adipogenic differentiation.

Введение. Одной из ключевых характеристик мультипотентных мезенхимных стромальных клеток, согласно предложению Международного Общества Клеточной Терапии (ISCT), является их способность к цитодифференцировке в клетки мезодермального происхождения, в частности адипоциты, остеобласты и хондроциты [1]. Стандартными индукторами адипогенной дифференцировки ММСК костного мозга человека являются четыре вещества: 1-метил-изобутилксантин, дексаметазон, инсулин и индометацин [2]. В данной работе мы показали,

Список литературы

1. Friedenstein A.J., Chailakhyan R.K., Gerasimov U.V. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers // Cell Tissue Kinet. 1987; 20: 263-72.
2. Zohar R., Sodek J., McCulloch C.A. Characterization of stromal progenitor cells enriched by flow cytometry // Blood., 1997. Nov 1;90(9):3471-81.
3. Vacanti V., Kong E., Suzuki G. et al. Phenotypic changes of adult porcine mesenchymal stem cells induced by prolonged passaging in culture // J. Cell. Physiol., 2005. Nov;205(2):194-201.
4. Na K., Kim S.W., Sun B.K. et al. Osteogenic differentiation of rabbit mesenchymal stem cells in thermo-reversible hydrogel constructs containing hydroxyapatite and bone morphogenic protein-2 (BMP-2) // Biomaterials, 2007. Jun;28(16):2631-7.
5. Violini S., Ramelli P., Pisani L.F., Gorni C., Mariani P. Horse bone marrow mesenchymal stem cells express embryo stem cell markers and show the ability for tenogenic differentiation by in vitro exposure to BMP-12 // BMC Cell Biol., 2009. Apr 22;10:29.
6. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // Cytotherapy, 2006;8(4):315-7.

Контактная информация:

ego-ekaterina@yandex.ru, (495)2345720

**Концентрации индукторов адипогенной дифференцировки ММСК костного мозга овцы в шести средах**

Индукторы	Среда №1	Среда №2	Среда №3	Среда №4	Среда №5	Среда №6
Дексаметазон	1 μM	0,1 μM	1 μM	1 μM	0,1 μM	1 μM
Инсулин	10 mM	10 mM	10 mM	6 mM	6 mM	10 mM
Индометацин	200 μM	200 μM	200 μM	20 μM	20 μM	20 μM
3-изобутил-1-метилксантин	0,5 mM	0,05 mM	0,05 mM	0,05 mM	0,05 mM	0,05 mM

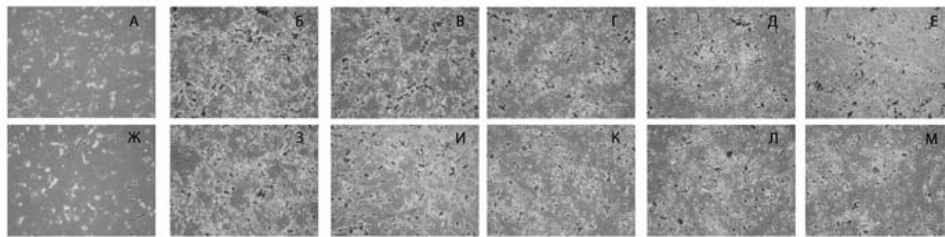


Рис. Направленная дифференцировка мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга овцы в адипоциты с использованием сред с различными концентрациями индукторов.

Окрашивание Oil Red O (X100). А и Ж – среда №1, 21 и 28 дней соответственно; Б и З – среда №2, 21 и 28 дней соответственно; В и И – среда №3, 21 и 28 дней соответственно; Г и К – среда №4, 21 и 28 дней соответственно; Д и Л – среда №5, 21 и 28 дней соответственно; Е и М – среда №6, 21 и 28 дней соответственно

Полученные пробы костного мозга собирали в пробирки с LiHe (Sarstedt), затем разбавляли в 4 раза физиологическим раствором, забуференным фосфатами (ФСБ). После фильтрования через 70- μm фильтр (BD) клетки центрифугировали при 400g в течение 10 мин. для получения осадка. Основной средой для культивирования была среда DMEM с низким содержанием глюкозы (1 г/л) фирмы Gibco, дополненная 10% сыворотки плода коров (СПК) NuClone фирмы Perbio, однократным раствором незаменимых аминокислот (Gibco) и антибиотиками (Gibco).

Средой для дифференцировки ММСК КМ овцы в адипоциты была DMEM, дополненная СПК (10%), дексаметазоном, инсулином, индометацином и 3-изобутил-1-метилксантином.

Специфическая окраска липидных включений осуществлялась путем окрашивания культуры клеток специфическим красителем Oil Red O после культивирования в течение 21 и 28 дней в средах для дифференцировки. Для этого клетки фиксировали и добавляли свежеприготовленный раствор красителя Oil Red O (0,5% Oil Red в 100%-ном изопропанол-е разводили в дистиллированной воде в соотношении 3:2, фильтровали через 0,2- μm фильтр), затем инкубировали 10 минут, промывали 50%-ным изопропанолом, затем дистиллированной водой и докрашивали гематоксилином по Майеру.

Результаты и их обсуждение. Для выбора наиболее подходящей среды для эффективной цитодифференцировки в адипоциты ММСК костного мозга овцы были использованы те же индукторы, что и для цитодифференцировки ММСК костного мозга человека, но в различных концентрациях (табл.).

Содержание индукторов в среде №1 эквивалентно их концентрации для эффективной адипогенной дифференцировки ММСК человека. Как видно из рисунка (А и Ж), через 21 день при культивировании в этой среде большинство клеток погибло, дифференцировки в адипоциты не наблюдалось. Наиболее эффективной средой для цитодифференцировки являлась среда №2. Ключевым фактором для адипогенной дифференцировки являлась концентрация 3-изобутил-1-метилксантина,

что, видимо, связано с токсическим действием вещества, которое является оптимальным растворителем данного индуктора (DMCO). При уменьшении его содержания в 10 раз, число погибших клеток было минимальным. Тем не менее, эффективность цитодифференцировки сред №4, 5 и 6 была меньше, чем №2 и №3. Это связано с различным содержанием инсулина и индометацина. При этом именно концентрация индометацина оказалась наиболее критичной для эффективной цитодифференцировки ММСК костного мозга овцы (среды №3 и №6). Концентрация дексаметазона (ингибитор фосфолипаз А и С) является менее существенным фактором эффективной цитодифференцировки. Но сочетание именно трех индукторов (дексаметазон, инсулин и индометацин) способствует наиболее эффективной цитодифференцировке (среда №2).

Таким образом, нами была подобрана оптимальная среда для эффективной цитодифференцировки в адипоциты ММСК КМ овцы. В данной среде концентрация таких индукторов, как инсулин (один из ключевых индукторов адипогенной дифференцировки, который препятствует липолизу) и индометацин (ингибитор фермента циклооксигеназы 1 и 2 типов) совпадает с концентрацией данных индукторов в стандартной среде для дифференцировки в адипоциты ММСК человека. Концентрация 3-изобутил-1-метилксантина (индуктор внутриклеточного образования цАМФ) должна быть меньше, чем в среде для ММСК человека, поскольку при такой концентрации наблюдается сильная гибель клеток, что может быть связано с токсическим действием вещества, которое является оптимальным растворителем этого индуктора.

Список литературы

1. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytherapy*. 2006;8(4):315-7.
2. Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H. et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001 Apr;7(2):211-28.

Контактная информация:
ego-ekaterina@yandex.ru, (495)2345720.



АНАТОМО-ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ КОШЕК

В статье приводятся сведения о возрастных и локальных особенностях гистоструктуры регионарных лимфатических узлов мочевого пузыря здоровых кошек в постнатальном онтогенезе, заключающиеся в увеличении всех морфометрических показателей и усложнении структуры их капсулярного аппарата.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кошка, лимфатический узел, мочевой пузырь, капсулярный аппарат.

Е.Yu. SKLADNEVA

Katanov State University of Khakassia

ANATOMIC AND HISTOLOGIC PECULIARITIES OF REGIONAL LYMPHATIC NODES OF CATS BLADDER

Data on age and local peculiarities of histostructure of regional lymphatic nodes of health cat ladders in postnatal ontogenesis putting in increase of all morphometric indexes and complication of structure of their capsulate apparatus are cited.

KEY WORDS: cat, lymphatic node, bladder, ontogenesis, capsulate apparatus.

Изучение морфофункционального состояния лимфатического русла, в частности лимфатических узлов в норме и при различных патологиях – актуальная задача современной лимфологии [3]. Эта актуальность обусловлена прежде всего чрезвычайно широкой распространённостью сосудистых заболеваний, сопровождающихся флебогипертониями, артериальными ишемиями и лимфостазом. Лимфатические узлы с их специфической структурой и многообразными функциями, определяющими характер гемо- и лимфодинамики и налагающими заметный отпечаток на клеточный состав, химизм и иммунные свойства внутренней среды организма, играют важнейшую роль в осуществлении сочетанной дренажной деятельности венозной и лимфатической систем [1, 2].

Известно, что с возрастом происходят существенные изменения функций иммунной системы, что, безусловно, отражается на структуре всех иммунокомпетентных органов, в частности лимфатических узлов [1, 3-5].

Несмотря на довольно долгую историю изучения лимфатической системы, в литературе имеется недостаточно работ, посвящённых изучению регионарных лимфатических узлов мочевого пузыря кошек, поэтому актуальность выбранной тематики исследований сомнений не вызывает.

Целью нашего исследования было выявление структурных особенностей регионарных лимфатических узлов мочевого пузыря кошек.

Материал и методы исследований. Материалом нашего исследования служили трупы беспородных кошек без признаков поражения органов мочеполовой системы на разных этапах постнатального онтогенеза: новорожденные; периода отъёма (21-30 дней); периода полового созревания (7-9 мес.); взрослые (1,5-7 лет); старые (старше 8 лет).

В ходе исследования нами применялись классические и совершенно новые методики исследования лимфатического русла: внутритканевая инъекция лимфатического русла красящими массами; лимфорентгенография; препарирование; изготовление продольных, поперечных и тангенциальных гистологических срезов лимфатических узлов; изготовление тотальных препаратов из капсулы лимфоузлов; световая и электронная микроскопия.

Результаты исследований и их анализ. В ходе впервые проведенных нами исследований было установлено, что капсула лимфатических узлов мочевого пузыря кошек состоит из трех слоев: внутреннего, представленного слоем эндотелиальных клеток; среднего, состоящего из гладкомышечных и соединительнотканых элементов и наружного – соединительнотканного. С возрастом отмечается увеличение толщины капсулы лимфоузлов мочевого пузыря кошек за счёт увеличения количества всех её структурных элементов.

Главным элементом сократительной активности лимфоузлов являются миоциты их капсулы. В отечественной и зарубежной литературе было обнаружено довольно много противоречивых сведений в отношении распределения гладкомышечных элементов в капсуле лимфатических узлов. Так D.Folse et al. (1975) сообщает, что миоциты распределены в капсуле равномерно. По сведениям многих других авторов в отношении лимфатических узлов различных органов животных, миоциты капсулы залегают в ней неравномерно. Проведенные нами исследования подтвердили точку зрения второй группы исследователей. Так, нами установлено, что миоциты среднего слоя капсулы лимфатических узлов мочевого пузыря кошек имеют ядра веретеновидной формы и распределяются по поверхности капсулы неравномерно. Наибольшее количество миоцитов обнаруживается в зоне прикрепления



трабекул (зона мышечно-соединительнотканых тяжей). В этой области они залегают в несколько слоев и ориентируются по ходу трабекул. В зоне прилегания лимфатических фолликулов (зона разрежения) капсула более тонкая, содержит небольшое количество миоцитов, которые не имеют определенной ориентации. Было отмечено, что все слои капсулы лимфатических узлов мочевого пузыря кошек содержат эластические и коллагеновые волокна с запасными складками, которые определяют предел растяжимости капсулы при заполнении лимфоузла лимфой. Были установлены возрастные особенности распределения миоцитов и соединительнотканых элементов в капсуле лимфатических узлов мочевого пузыря кошек. Так, содержание миоцитов, коллагеновых и эластических волокон в капсуле увеличивается прямо пропорционально возрасту животного, причем данная закономерность характерна как для зоны мышечно-соединительнотканых тяжей, так и для зоны разрежения. Отмечалось, что во всех возрастных группах количество миоцитов в зоне мышечно-соединительнотканых тяжей капсулы лимфоузлов всегда преобладает над таковым в зоне разрежения. Мы полагаем, что количество миоцитов в капсуле лимфатических узлов положительно коррелирует со способностью ее к сократительной активности. Следовательно, наиболее активной является капсула регионарных лимфатических узлов мочевого пузыря взрослых кошек, о чем свидетельствует также специфическая извитая форма ядер ее миоцитов. Кроме того, лимфатические узлы взрослых кошек обладают большей депонирующей способностью, так как их коллагеновые волокна содержат большее количество запасных складок, а следовательно, способны сильнее растягиваться.

Впервые нами была изучена взаимосвязь структурных элементов афферентных и эфферентных лимфатических сосудов с капсулой лимфоузлов мочевого пузыря кошек.

Нами было выявлено, что афферентные лимфатические сосуды прободают капсулу лимфатического узла под острым углом к его поверхности, проходят некоторое расстояние в толще капсулы и только потом открываются в краевой синус. Такой ход лимфатических сосудов, по нашему мнению, позволяет лимфе беспрепятственно поступать в лимфатический узел даже в случае его переполнения или в момент систолы его капсулы, а также совместно с клапанами лимфатических сосудов препятствует ретроградному току лимфы. Данная теория подтверждается тем, что благодаря такому расположению лимфатических сосудов, краситель, введенный непосредственно в лимфатический узел, окрашивает только эфферентные и не поступает в афферентные лимфатические сосуды. При впадении афферентных лимфатических сосудов в капсулу лимфоузла коллагеновые и эластические волокна, а также миоциты первого веерообразно переходят во все слои капсулы без видимых границ.

Эфферентные лимфатические сосуды мочевого пузыря кошек выходят из воротного синуса лимфоузла совместно с кровеносными сосудами и нервами, при этом все структурные элементы капсулы без видимых границ переходят в стенку лимфатического сосуда.

В ходе исследования были выявлены элементы гемодинамического русла лимфатических узлов мочевого пузыря кошек, представленные мелкими артериями, артериолами, капиллярами, венами и венами. Было выяснено, что лимфатические узлы данного органа снабжаются кровью как от артерий, входящих в них через ворота, так и от сосудов, вступающих в узлы со всей поверхности. В мозговой зоне лимфатических узлов были обнаружены густые мелкопетлистые сети капилляров. Микроциркуляторное русло корковой зоны лимфатических узлов мочевого пузыря кошек выражено несколько хуже. Вокруг всех элементов кровеносного русла лимфатических узлов выявлены скопления лаброцитов, которые окружают наружную оболочку кровеносных сосудов и капилляров на всем их протяжении. По мнению некоторых исследователей [2, 4], данные клетки способны синтезировать и выделять гепарин, гистамин, серотонин и некоторые другие вазоактивные вещества, способные, по-видимому, влиять на насосную и емкостную функции лимфатического узла. Также были выявлены тесные взаимоотношения лаброцитов капсулы лимфатических узлов мочевого пузыря кошек с миоцитами, что предполагает непосредственное влияние лаброцитов на сократительную активность капсулы и трабекул лимфоузлов.

Подводя итог вышесказанному, следует отметить, что лимфатические узлы мочевого пузыря кошек обладают возрастными и локальными особенностями, заключающимися в усложнении структуры их капсулы.

Список литературы

1. Аристова Е.С., Машак А.Н. Структурные особенности и клеточный состав регионарных лимфатических узлов мини-свиньи на поздних этапах постнатального онтогенеза // Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса: Труды ГУ НИИКиЭЛ СО РАМН. Новосибирск, 2004. Т.10. Ч.1. С. 29-30.
2. Бородин Ю.И., Григорьев В.Н. Лимфатический узел при циркуляторных нарушениях. Новосибирск: Наука, 1986. 266 с.
3. Чумаков В.Ю. и др. Некоторые возрастные особенности строения лимфатических узлов млекопитающих: Мат. II Межд. научно-практич. конф. «Основные научные достижения-2007». Днепропетровск: Наука и образование. С. 64-67.
4. Durovicova J. Joint regional Lymph node of the human stomach and dnodenum // Foliamorphol [CSSR].1983. Vol. 31. Н.1. Р. 110-112.
5. Folsie D.S. Smooth muscle in lymph node capsulae and trabeculae // Anat. Res., 1975. №4. Р. 517-521.

Контактная информация:
Складнева Е.Ю.
doktorr2006@yandex.ru



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКОСИСТЕМЫ СОДОВЫХ ОЗЕР ЗАБАЙКАЛЬЯ В ЭКОНОМИКЕ РЕГИОНОВ

В данной статье приведена хозяйственная и экономическая значимость содовых озер Забайкалья и рассмотрены пути их использования в экономике.

Ключевые слова: экономика, pH, классификация по Валяшко, потенциал, биологически активные вещества, типы, рекреационные цели, бальнеология, хозяйственно-значимые объекты, кормовые добавки, ветеринарно-аппликационные средства.

A.V. KULYROVA

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

USE ECOSYSTEM OF SODA LAKES OF AREA ZABAİKALIE IN ECONOMY OF REGIONS

In given article the economical importance of soda lakes of Transbaikalia is resulted and ways of their use to economy are considered.

KEYWORDS: economy, pH, classification on Valyashko, potential, biologically active substances, types, the recreational purposes, balneology, economic-significant objects, fodder additives, veterinarно-applikatsionnye means.

В связи с наступившей новой системой в экономике России стали актуальны процессы освоения собственно-территориальных ресурсов (вода и донные осадки озер, минеральные источники, природные ландшафты, реки, природно-исторические памятники, болота и т.д.) по типу гибкой технологии.

Цель этих технологий – разработка и получение биологически активных веществ, лечебных материалов, препаратов, удобрений и т.д. для применения их в ветеринарной и официальной медицине для лечения и профилактики животных и населения. При этом следует отметить, что эксплуатирование собственно-территориальных ресурсов без научного подхода может привести к экологическому кризису этих объектов.

Цель и задача настоящей работы – рассмотрение путей использования экосистемы содовых озер Забайкалья в экономике края (Забайкальский край, Россия).

Территория Забайкалья, как и вся Центральная Азия, отличается большим разнообразием водных и наземных систем, геологические и физико-химические условия которых определяют развитие специфических микробных сообществ.

Исследование водных микробных сообществ, обитающих в экстремальных условиях, представляет интерес в связи с тем, что микробное сообщество при pH 9 не содержит эвкариотных организмов, и граница минерализации около 10% определяет развитие алкалофильного прокариотного сообщества.

Основное количество исследованных содовых озер Забайкалья по минерализованности воды, согласно классификации Валяшко (на основании суммы солей), относится к солоноватым (1,0-25,0 г/л), озеро Хилганта – к соленым (26-50 г/л), а Борзинское Соленое – к рассольным (свыше 50 г/л). Наибольшие минерализации, равные 15,8 и 41,49-88,61 г/л, были зафиксированы в озерах Цайдам, Хилганта, Борзинское Соленое, а минимальные – в озере Остожей (1,54 г/л).

Глубина воды в исследуемых озерах варьирует от 0,24 до 6 м, но эти глубины не принципиальные для них, т.к. при продолжительной засухе они могут высохнуть до дна. Например, такие крупные озера как Зун и Барун-Торей в 50–60-е годы прошлого века высыхали до дна, хотя они в

начале XX века являлись судоходными озерами и обеспечивали торговлю между Китаем, Монголией и Россией.

К потенциалу содовых озер относятся: вода, донные осадки, микробные маты, микроорганизмы, химические вещества (соли, органические вещества, витамины, ферменты и т.д.), биогеоценоз, экосистема и т.д.

Поэтому существует необходимость определения наиболее эффективных путей использования малых озер, к которым относятся содовые озера, в экономике Забайкальского края и государства в целом.

Наибольшее количество озер, расположенных на территории с криаридным климатом, относится к минерально-содовым типам водоемов, они образовались и продолжают образовываться в небольших депрессиях за счет скапливания вод атмосферно-осадочного и подземного характера. В зависимости от питания эти озера делятся на несколько типов:

- водоемы озерного пояса – озера, образованные в зоне тектонических нарушений (глубина до 2 м, pH воды 9-11);
- озера, имеющие подземное питание – образованные в результате нарушений эрозионно-тектонического типа (глубина до 3-7 м, pH 8-9);
- озера чисто тектонического типа (глубина до 7-20 м, pH 7-8);
- старичные озера, в которых происходит отложение солей (глубина до 1 м, pH 8-12).

Описанные в данной работе содовые озера относятся к 1, 2 и 4 типу озер. Эти озера можно разделить по экономической значимости на культурно-оздоровительные и хозяйственно-значимые (табл.).

Содовые озера Забайкалья по культурно-оздоровительной значимости следует эксплуатировать для рекреационных целей, как функционирующую в течение года туристическую базу со спортивно-профилактическим направлением и как бальнеологические объекты для курортологических и ветеринарно-медицинских целей, а также их следует квалифицировать как сельскохозяйственно-значимые.

Поскольку эти содовые озера в основном являются пересыхающими, то экономические вложения при рекреационном и бальнеологическом освоении следует делать с учетом этих особенностей. Например, вдоль бе-



Хозяйственная и экономическая значимость содовых озер Забайкалья

Озера	Глубина, м	рН	Тип водоема	Экономическая значимость	
				Хозяйственная	Культурно-оздоровительная
Озера Онон-Борзинского бассейна					
<i>Ононские озера</i>					
Барун-Торей	3-6	9,04	Озерного пояса	Сельскохозяйственно-значимые	Туристическая база со спортивно-профилактическим направлением
Зун-Торей	3-6	9,12	Озерного пояса		Туристическая база со спортивно-профилактическим направлением
Остожей	до 1	9,21	Озерного пояса		Бальнеологическое
Илим-Торум	1-2	9,53	Озерного пояса		-
Хойто-Торум	1-2	9,3	Озерного пояса		Бальнеологическое
Хусатуй	1-2	9,49	Озерного пояса		Бальнеологическое
Дабаса-Нур	до 1	9,43	Старичный		Бальнеологическое
Иван-Нур	1-2	10,8	Озерного пояса		-
Шубутэ-Нур	1-2	11,9	Озерного пояса		-
Цаган-Нур (Ононское)	1-3	9,1	Озерного пояса		Туристическая база со спортивно-профилактическим направлением
Тором-Нур	1-3	8,9	Озерного пояса		
Цацучейское озеро	1-4	8,7	Озерного пояса		Бальнеологическое
Шабартэ-Нур	до 1	9,7	Озерного пояса		
<i>Борзинские озера</i>					
Борзинское Солёное	до 1	10,2	Старичный	Солёное	Бальнеологическое
Малая Борзянка	1-2	9,61	Озерного пояса	Сельскохозяйственно-значимые	Туристическая база со спортивно-профилактическим направлением
Тукрен-Нур	1-3	9,43	Озерного пояса		
Цаган-Нур (Борзинское)	1-3	9,81	Эрозионно-тектонический		
Быльэйсумское	1-3	9,31	Озерного пояса		
Быркинское	1-2	9,76	Озерного пояса		
Харанорское	2-6	9,21	Эрозионно-тектонический		
<i>Агинские озера</i>					
Горбунка	1-2	9,13 9,91	Старичный	Сельскохозяйственно-значимые	Бальнеологическое
Гонзогор	1-2	9,31	Озерного пояса		Бальнеологическое
Хилганта	до 1	9,47	Старичный		Бальнеологическое
Безымянное	1-2	9,16	Озерного пояса	-	Туристическая база со спортивно-профилактическим направлением
Ножей	до 5	8,87	Эрозионно-тектонический	Сельскохозяйственно значимые	Бальнеологическое
Ута-Нур	1-2	9,0	Озерного пояса	-	Туристическая база со спортивно-профилактическим направлением
Цаган-Нур Кункурское	до 4	9,61	Эрозионно-тектонический	Сельскохозяйственно значимые	
Кункурское	до 4	9,80	Озерного пояса		
Цаган-Нур	1-2	9,4	Озерного пояса	-	
Вонючее	До 1	9,90	Озерного пояса	Сельскохозяйственно значимые	
Саган-Нур Орловское	1-2	9,06	Озерного пояса	-	Бальнеологическое
Гурбан-Нур (Цаганольское)	До 3	10,3	Озерного пояса	Сельскохозяйственно-значимые	Туристическая база со спортивно-профилактическим направлением
Карасиное	3-4	9,6	Озерного пояса	-	
Баржигантайское	2-3	8,9	Эрозионно-тектонический		
Хара-Нур	1-2	9,8	Озерного пояса	Сельскохозяйственно-значимые	
Барун-Хонге-Нур	1-2	11,0	Озерного пояса		
Зун-Хонге-Нур	1-2	10,5	Озерного пояса	Сельскохозяйственно значимые	
<i>Озера Селенгинской Даурии</i>					
Верхнее Белое	1-4	9,81 10,13	Эрозионно-тектонический	Сельскохозяйственно-значимые	Бальнеологическое
Нижнее Белое	1-3	9,59	Эрозионно-тектонический		
Цайдам	до 1	10,14	Озерного пояса		
Селендумовские озера	1-3	8,1	Озерного пояса		
Сульфатное	до 4	9,18	Старичный		Туристическая база со спортивно-профилактическим направлением



рега этих озер вместо дорогостоящих постоянных деревянных домиков и кемпингов следует ставить бурятские юрты с учетом зимнего и летнего варианта, т.к. они являются универсальными сооружениями для проживания человека в любое время года (проверено временем).

Они удобны при сборке, разборке, перевозке с одного места на другое (при уставании озер) или их можно будет убрать и хранить в сухом месте (в безводные, засушливые годы). Тогда как дорогостоящие деревянные домики и кемпинги в проблемные (при уставании озер или безводные годы) для озер годы могут быть заброшены и со временем или будут разграблены, или придут в негодность. Соответственно, они потребуют новых вложений денег или будут потеряны вообще, и при этом еще будут загрязнены берега озер.

В ветеринарной медицине используется как минеральная вода рапы озер, так и донные осадки, и микробные маты для лечения дистрофии и эндометритов у животных, лечебной профилактики животных при дефиците в организме некоторых химических элементов, витаминов, ферментов и т.д.

В настоящее время наиболее приемлемыми методами для разработки и добычи донных осадков из-под воды содовых озер Забайкалья для курортологических и ветеринарно-медицинских целей с точки зрения экологичности и экономичности являются следующие способы: гидромеханизированный способ с использованием пневматических камерных насосов (ПКН), всасывающий, шнековый и пневмо-шнековый.

Добыча донных осадков со дна содовых озер Забайкалья как хозяйственно-значимых объектов для производства биологически активных кормовых добавок, биологически УДК 574.52

А.В. КУЛЫРОВА

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

МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ СЕРОВОДОРОДА В ДОННЫХ ОСАДКАХ СОДОВЫХ ОЗЕР ЗАБАЙКАЛЬЯ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

В данной работе даны результаты исследования механизма образования сероводорода в донных осадках на примере озера Хилганта, как одного из факторов биологической активности донных осадков в содовых озерах Забайкалья.

Ключевые слова: озеро Хилганта, сероводород, продукционный сероводород, продукционный кислород, сульфатредукторы, анаэробы, гетеротрофы, скорость сульфатредукции, бактериальная продукция.

A.V. KULYROVA

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

THE MECHANISM OF FORMATION OF HYDROGEN SULPHIDE IN GROUND DEPOSITS OF SODA LAKES OF AREA ZABAİKALIE AS ONE OF FACTORS OF BIOLOGICAL ACTIVITY

In the given work results of research of the mechanism of formation of hydrogen sulphide in ground deposits on a lake Hilganta example, as one of factors of biological activity of ground deposits in soda lakes of area Zabaikalie are yielded.

KEYWORDS: lake Hilganta, hydrogen sulphide, production hydrogen sulphide, production oxygen, sulfatereducer, anaerobe, heterotrophes, speed of sulfatereducer, bacterial production.

Актуальность настоящей работы состоит в выявлении механизма образования сероводорода в содовых озерах Забайкалья для дальнейшего их использования как одного из факторов биологической активности донных осадков с микробными матами.

активных ветеринарно-аппликационных средств, биологически активных минеральных вод для ветеринарных целей должна производиться в соответствии с требованиями ПБ 07-602-03 «Правила разработки и охраны месторождений минеральных вод и лечебных грязей».

Таким образом, существует несколько путей использования экосистемы содовых озер Забайкалья в экономике Забайкальского края:

- для рекреационных целей, как туристические базы со спортивно-профилактическим направлением;
- как бальнеологические объекты;
- как хозяйственно-значимые объекты для производства биологически активных кормовых добавок, биологически активных ветеринарно-аппликационных средств, биологически активных минеральных вод для ветеринарных целей.

Список литературы

1. Кулырова А.В., Намсареев З.Б., Банзаракцаева Т. Участие бактерий в формировании компонентного состава лечебных грязей содовых озер Забайкалья: Мат. конф. «Тибетская медицина: традиции, перспективы, интеграция». Улан-Удэ, 1997. С. 106.
2. Кулырова А.В., Данилова Э.В., Дондоков В.Ш. Микрофлора лечебных грязей Забайкалья: Мат. регион. конф. «Сохранение биологического разнообразия в Байкальском регионе: проблемы, подходы, практика». Улан-Удэ, 1996. С. 63.
3. Кулырова А.В., Тихонов И.В., Дондуков Б.А. Исследование химического и микробиологического состава воды и донных осадков содовых озер Забайкалья как природного источника биологически активных и минеральных веществ при производстве кормовых БАД для животных // Ветеринарная медицина, 2009. №1-2. С. 43-44.

*Контактная информация:
Кулырова Анна Валерьевна,
8(926)767-40-85*



рость образования и выявить механизм образования сероводорода.

Объект исследования: озеро Хилганта (Забайкальский край, Россия).

По левому берегу реки Аги и в долинах левых притоков реки Онон находятся озера, относящиеся к Агинской группе озер. Агинские озера не имеют пластовых отложений солей, поэтому практическая ценность их в основном сводится к использованию как грязевых ресурсов. На данной территории насчитывается большое количество содовых озер, часть которых пересыхает в засушливое время, при этом дно их покрывается выцветами солей – хужиром.

Описание озера Хилганта. Озеро Хилганта находится в 8 км на северо-восток от села Кункур Агинского района Забайкальского края. Форма озера округлая. Общая площадь водного зеркала составляет 20030 м², максимальная глубина 0,36 м. Дно озера блюдцеобразное и илистое. Ил имеет черный цвет до 0,5-1,3 м, далее серый. Поверх ила дно покрыто кожистым цианобактериальным матом до 2,5-3,5 см с хорошо выраженной слоистостью. Берег вокруг озера пологий, только с юго-восточной части образует небольшую обрывистость. Пляжи вокруг озера песчаные, и на них выступают грязно-белого цвета солевые высулы толщиной до 2 см. Озеро в период дождей с северной стороны частично опресняется. Вода в озере соленая и прозрачная, бактериальные маты хорошо видны через водную толщу.

Анализ колонок донных осадков. Анализы колонок донных осадков показывают, что в разных точках озера глубина черного ила достигает 20-130 см, нижерасположены илы серого цвета. Илы имеют пластическую и маслянистую консистенцию, в колонке фиксируются разрывы газа, остатки растительности. Вблизи озера в течение суток чувствуется сильный запах сероводорода, который усиливается в темное время суток, а также в пасмурные дни. Водно-солевое питание озеро получает за счет атмосферных осадков и вод поверхностного стока.

Скорость образования сероводорода. Выделение большого количества сероводорода из всех исследованных Агинских озер было замечено только в озере Хилганта, где оно составляло до 100 мг/л, хотя в некоторых озерах замечалось выделение данного газа, но в отличие от озера Хилганта этот процесс не был преобладающим. В озере Хилганта наблюдается круглосуточное выделение сероводорода.

Механизм образования сероводорода. В водной толще озера Хилганта механизм образования сероводорода тесно связан с концентрацией растворенного в воде кислорода.

Растворенный в воде кислород в данном озере фиксируется в светлое время суток и только в прибрежье, а в пасмурные дни растворенный кислород отсутствует по всей толще воды и акватории озера.

В течение суток в любую погоду в середине озера растворенный в воде кислород вообще не фиксируется. И тем самым в середине озера как в толще воды, так и в донных осадках сохраняются анаэробные условия независимо от погоды. Это объясняется тем, что сероводород является легкоокисляющимся газом в аэробных условиях, и в озере Хилганта образующийся кислород частично днем (в прибрежье) и полностью ночью расходуется на

химическое окисление сероводорода и деятельность аэробных микробов. Тем самым в этом озере наблюдается преобладание продукционного сероводорода над продукционным кислородом. Этим и объясняется круглосуточное выделение сероводорода в данном озере.

Продукционный кислород образуется за счет деятельности фототрофов и цианобактерий и только в присутствии солнечного света, а выделение сероводорода в основном происходит из донных отложений озера круглосуточно за счет деятельности сульфатредукторов. Донные осадки в виде маслянистого ила накоплены в достаточно большом количестве, их запасы достигают до 1,5 м органической массы, здесь происходит активная деятельность сульфатредукторов – их численность достигает 10 000 кл/мл.

Сульфатредукторы, являясь анаэробами и гетеротрофами, используют сульфаты как водородный акцептор при метаболическом окислении кислород аниона (SO₄²⁻) при отсутствии свободного кислорода. Наряду с сульфатами могут быть восстановлены сульфиты, гипосульфиты, тиосульфаты и элементарная сера (Baars, 1930). Скорость бактериального образования H₂S находится в линейной зависимости от концентрации SO₄²⁻, т.е. SO₄²⁻ + 2C + 3H₂O = H₂S + HS⁻ + 3HCO₃⁻. Кроме того, при отсутствии кислорода, но при одновременном присутствии сульфатов и органических веществ, почти всегда можно обнаружить признаки восстановления. Например, в озере Хилганта, где есть постоянные анаэробные зоны, содержание сульфатов в воде озера составляет от 357,2 до 403,2 мг/л. Образование сероводорода происходит в слоях ила, лишенных кислорода и имеющих низкий окислительно-восстановительный потенциал, который равен 70 мВ. Хотя при очень большом содержании сульфатов не только в озере Хилганта, но и в других содовых озерах Забайкалья, сульфаты подвергаются восстановлению. Обычно сероводород образуется в донных отложениях, но в содовых озерах происходит восстановление сульфата еще и в водной толще, где численность сульфатредукторов варьирует от 100 до 10 000 кл/мл. Образующийся сероводород в анаэробных слоях или в отложениях ила содовых озер Забайкалья в дальнейшем окисляется до сульфата, чем и завершается круговорот серы. Хотя из некоторых озер, в том числе из озера Хилганта, достаточно большое количество сероводорода выделяется в атмосферу, т.е. из-за недостатка кислорода при окислении сероводорода они выпадают из круговорота.

Поскольку кислород слабо растворим в воде и медленно диффундирует через ее толщу, то он быстро расходуется в озере Хилганта, вследствие отсутствия восполнения запаса этого газа за счет конвекционных процессов (турбулентной диффузии). Продуктом окисления сероводорода является элементарная сера (Бонч-Осмоловская и др., 1988). Окисленная сера в основном выделяется в водную среду содовых озер аэробными организмами, тогда как все гетеротрофные бактерии могут освобождать серу в виде сероводорода из протеинов и продуктов их разложения (Шлегель, 1987).

В донных осадках озера Хилганта скорость сульфатредукции была равна 8,6-8,93 мгS/кг сут. Скорость бактериального восстановления сульфатов в иле озера выше в верхних слоях 8,93 мгS/кг сут., а в более глубо-



Экология

ких слоях скорость данного процесса несколько замедляется и составляет 8,6 мгS/кг сут. При бактериальном восстановлении сульфатов в иле данного озера расход органического углерода составляет от 6,45 до 6,69 мгC/кг сут. Бактериальная продукция H_2S в илах озера Хилганта составила 135,9 мкгS(H_2S) m^2 сут.

Итак, благоприятными факторами для развития сульфатредукторов в содовом озере Хилганта являются достаточно высокие концентрации сульфатов, большое содержание низкомолекулярных органических веществ и биогенов, а также восстановленные условия среды.

Основными источниками сульфатов для микробов в содовом озере Хилганта являются минералы и органические вещества, которые в результате деятельности микроорганизмов подвергаются процессам выщелачивания, окисления, разложения и т.д., в результате образуются серосодержащие аминокислоты, сульфиды, сера и т.д. В анаэробных зонах донных осадков содовых озер микробы используют продукты промежуточных броже-

ний, электроны сульфатов, углекислоты и другие вещества как акцепторы.

Таким образом, процесс образования сероводорода в озере Хилганта происходит двумя путями, включая бактериальный метаболизм, но в некоторых условиях в присутствии молекулярного кислорода и H_2S может окисляться самопроизвольно с образованием серы.

Список литературы

1. Горленко В.М., Намсареев Б.Б., Кулырова А.В. и др. Активность сульфатредуцирующих бактерий в донных осадках содовых озер Юго-Восточного Забайкалья // Микробиология, 1999. Т. 68. №5. С. 664-670.
2. Бонч-Осмоловская Е.А., Веденина И.Я., Заварзин Г.А. Гиперсоленые лагуны оз. Сиваш и анаэробная деструкция органических веществ // Микробиология, 1988. Т. 57. Вып. 3. С. 442-449.
3. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 556 с.

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

УДК 502.1

Е.Е. ПУРТО

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

НАНОТЕХНОЛОГИИ И ЭКОЛОГИЯ

В статье предпринимается попытка рассмотрения развития нанотехнологии как наиболее перспективной отрасли современной техники с точки зрения её влияния на экологию. Автор статьи даёт необходимую информацию о нанотехнологиях, показывает основные результаты их применения, в том числе в медицине и в сельском хозяйстве. Преимущественное внимание уделено экологическому аспекту развития нанотехнологий, возможному положительному или отрицательному воздействию продуктов нанотехнологии на биосферу и здоровье людей.

Ключевые слова: нанотехнологии, постиндустриальный, экология, безопасность, биосфера, медицина, здоровье, сельское хозяйство, наноматериалы.

Е.Е. PURTO

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

NANOTECHNOLOGIES AND ECOLOGY

In article attempt of consideration of development of a nanotechnology as most perspective branch of modern technics from the point of view of its influence on ecology is undertaken. The author of article gives the necessary information on nanotechnologies, shows the basic results of their application, including in medicine and in agriculture. Primary attention gives to ecological aspect of development of nanotechnologies, possible positive or negative influence of products of a nanotechnology on biosphere and health of people.

KEYWORDS: nanotechnologies, postindustrial, ecology, safety, biosphere, medicine, health, agriculture, nanomaterials.

Большое значение для обеспечения экологической безопасности России могут сыграть нанотехнологии, к которым уже в течение нескольких последних лет оказалось приковано внимание научного сообщества, а также элиты политики и бизнеса. Нанотехнологии являются новейшим и самым современным уровнем обработки материалов, доступным человеку.

Нанотехнологиями признаются те технологии, которые производятся с помощью объектов, размер которых не превышает 10^{-9} м, т. е. атомов и элементарных частиц. Нанотехнологии стали междисциплинарной областью фундаментальной и прикладной науки и техники, связанной с теоретическими и практическими во-

просами исследования, а также методов производства и применения продуктов с заданной атомарной структурой посредством контролируемого манипулирования отдельными атомами и молекулами. В целом на данный момент нанотехнологии признаются самым перспективным направлением в современной науке, технике и промышленности. Это следующий шаг, вытекающий из предшествующего развития производственных технологий. По тому, насколько применяются нанотехнологии, можно делать вывод о степени перехода экономики и в целом общества от индустриального к постиндустриальному обществу.



Вокруг применения нанотехнологий и возможных последствий этого в экологическом аспекте разворачиваются жаркие дискуссии. Сторонники широкого применения нанотехнологий утверждают, что с их помощью можно совершить переход от эры промышленных технологий с присущей им ярко выраженной опасностью для устойчивого состояния биосферы к принципиально новым технологиям, основанным на использовании природных процессов без грубого вмешательства в их ход. В этом можно усмотреть зародыш принципиально нового подхода в отношении человека к окружающей среде, гарантирующего сохранение экологического баланса и коэволюцию природы и общества. Кроме того, нанотехнологии могут оказаться полезными в плане решения частных экологических проблем, например, ради создания фильтров для очистки вод и воздуха. В трудах зарубежных экологов фигурирует термин «нанокология», которым обозначаются меры, становящиеся возможными для обеспечения экологической безопасности посредством применения нанотехнологий. Развитие и широкое применение нанотехнологий приведёт, например, к отказу от сжигания больших запасов угля, нефти, газа и соответственно минимизирует негативные экологические последствия употребления данных источников энергии. Это приведёт к снижению опасности парникового эффекта, которой никак нельзя было избежать, оставаясь в рамках индустриального производства. Также это позволит решить проблемы, связанные с истончением озонового слоя в связи с избытком техногенных выбросов в атмосферу. Нанотехнологии могут менять химическую структуру отходов, превращая токсичные вещества в безопасные и тем самым содействуя безопасности техногенного влияния на окружающую среду.

Однако существуют и скептики, которые, признавая большое значение нанотехнологических разработок, предупреждают о возможном негативном влиянии применения нанотехнологий для экологической безопасности. Любое использование новых технологий таит в себе потенциальную опасность, в первую очередь из-за того, что мы не знаем всех свойств материала, с которым производим работу, а они могут быть сколь угодно опасны. Сразу же должна возникнуть мысль, не высвобождает ли мы, применяя нанотехнологии, те силы, которые могут оказаться разрушительными и выйти из-под контроля человека. В принципе данная проблема уже была в середине–конце XX в. поставлена относительно ядерной энергии. Авария на Чернобыльской АЭС служит самым ярким примером экологического бедствия, вызванного вышедшей из-под контроля человека силой, казалась бы, подвластной ему.

Как мы заметили выше, наноконструкции имеют своей главной составной единицей атом, чем во многом и обуславливаются полезные качества наноматериалов (сверхпрочность, чрезвычайная компактность и пр.). Однако именно благодаря своим малым размерам наноматериалы могут представлять существенную опасность. Как правило, наноматериалы в большей степени химически активны; ядовитые вещества вследствие большей суммарной площади поверхности становятся более токсичными, а следовательно, и более опасными. Следует также иметь в виду, что воздействие квантовых эффектов, которым подвергаются наночастицы, может

изменить химическую структуру безвредного вещества, превратив его в какое-то другое вещество со свойствами уже представляющими опасность для человека и среды. Из-за своих малых размеров наночастицы могут свободно проходить через стенки клеток и нарушать работу клеточных органов, что неминуемо скажется на жизнедеятельности всего организма.

Есть много примеров негативного воздействия наночастиц на здоровье живых существ. Воздействие наночастиц оказалось способным нарушать репродуктивные функции организмов и работу головного мозга. Естественно, попадание таких материалов в биосферу может привести к весьма печальному результату не только для живущих в этой среде организмов, но и для самого человека. Наверное, стоит согласиться с А.В. Егошиным, что развитие нанотехнологий должно вызвать коренные изменения в экологической науке и методах ликвидации загрязнений вследствие того, что обнаружить загрязнение наноматериалами прежними методами почти невозможно. Упомянутый нами автор настаивает на введении терминов «нанозкология», «нанозагрязнение» и утверждает, что нанозкология будет являться экологией постиндустриального общества. Чрезвычайно опасными являются попытки использовать нанотехнологии в военных целях. Возникает угроза того, что в руках террористов окажутся подобные разработки или просто токсичные нановещества.

Также и японские специалисты полагают, что использование нанотехнологий влечёт за собой опасные экологические последствия, вредящие здоровью людей и состоянию окружающей среды. Они предостерегают против однозначно апологетического подхода к нанотехнологиям, не замечая возможного вреда от их применения. Японские эксперты установили в результате экспериментов, что наноэлементы могут впитывать загрязнения и распространять их в окружающей среде. Кроме того, отдельные вещества, разработанные на основе нанотехнологий, могут вызывать повреждения внутренних органов. Были проведены эксперименты, подтвердившие, что нанотрубки часто вызывают воспаление лёгких. Вследствие этого и других подтвердившихся фактов вредного влияния нановеществ эксперты предлагают ввести мораторий на разработку и применение некоторых видов наноматериалов (подобно запрету на клонирование человека).

Как уже отмечалось, наноматериалы обладают повышенными абсорбирующими свойствами, что может иметь не только положительное значение в очистных устройствах, но вызывает опасность, что наноэлементы будут при своём распространении содействовать загрязнению окружающей среды. Соответственно возникает идея о планомерном отслеживании и постоянном мониторинге перемещения наночастиц и их влияния на состояние биосферы и здоровья человека. Для этого необходимо создавать специальные устройства, также основанные на принципе нанотехнологий. Правительства разных стран и частные спонсоры выделяют значительные суммы на отслеживание возможного вредного влияния нановеществ. Например, агентством США по защите окружающей среды в 2006 г. были выделены гранты на сумму 5 млрд долларов для изучения влияния нанотехнологий на здоровье людей и состояние окружающей среды.



Экологическая безопасность применения нанотехнологий тревожит и российских учёных. На конференции, посвящённой проблемам биобезопасности нанотехнологий НИИ медицины труда РАМН, её участники предложили правительству ввести нормы контроля за продуктами nanoиндустрии. Специалисты, участвовавшие в конференции, настаивали на том, что при продвижении технических инноваций обязательно следует просчитывать последствия в отношении экологической безопасности, чтобы не повторять ошибок индустриальной эпохи, когда этот фактор, равно как и вред здоровью людей, фактически не учитывался. Академик РАМН Сергей Колесников привёл пример строительства заводов по производству кормового белка. После возведения этих заводов выяснилось, что у жителей окрестных населённых пунктов резко возросла заболеваемость лёгочными заболеваниями. В одной из статей С.И. Колесников, подчёркивая положительные последствия действия нанотехнологий для медицины (создание особо эффективных, «умных» лекарств), вместе с тем пишет: «Меня очень беспокоят проблемы безопасности нанотехнологий. Все сейчас говорят о конечном продукте, но наносубстанции, то, из чего изготавливаются наноматериалы, очень опасны, потому что это весьма маленькие частицы, которые могут проникать через кожу, даже по воздуху, куда угодно, в легкие, в кишечник, Как это влияет на организм, мы еще толком не знаем – требуются очень серьезные исследования. Мы, медики, очень боимся».

Однако ряд исследований, проведённых зарубежными учёными, подтолкнули их к выводу, что применение нанотехнологий наносит окружающей среде всё же меньший ущерб, чем использование технологий индустриальной эпохи. Так, при исследовании влияния наночастиц на почвы, микроорганизмы и растения, живущие в данных почвах, динамики негативных процессов обнаружено не было. В целом реальное влияние наночастиц на среду и организм не является столь сильным, как это можно было бы предполагать на основе умозрительных заключений. Степень отравления составляющих окружающей среды незначительна, и современная наука вполне в состоянии с помощью превентивных мер минимизировать их воздействие на организм. Специалисты приходят к выводу, что при всех рисках положительный вклад нанотехнологий в улучшение жизни людей намного весомее. Весьма возможно, что с помощью нанотехнологий удастся сконструировать своеобразный регулятор экологических процессов, настроенный на достижение изначального баланса экосистемы и ликвидацию негативных последствий техно- и антропогенного вмешательства в среду. С помощью этого регулятора будут запускаться процессы в среде, аналогичные естественным, но может быть, более интенсивные.

Подобно всяким технологиям, нанотехнологии предназначены для изменения окружающего мира в соответствии с потребностями человека. Нанотехнологии осуществляют эту цель, поставленную перед любой техникой, на атомно-молекулярном уровне материального бытия. Эти современные технологии также являются этически нейтральными и могут быть использованы как во благо, так и во зло. Контроль за возможными последствиями применения нанотехнологии (в том числе и в

сфере экологической безопасности) должен лежать равным образом и на специалистах в сфере нанотехнологий, на государственных структурах и на общественных организациях. Нанотехнологии также должны быть открыты к взаимодействию с нетехническими, гуманитарно-ценностными составляющими человеческого бытия. Ни в коем случае нельзя допускать ситуацию, при которой технологии в той или иной степени подчинили человека. Человек, – вспомним знаменитый кантовский императив, – должен всегда оставаться целью и никогда не быть средством для чего бы то ни было.

Список литературы

1. *Feinman R.* There,s plenty of room at the bottom. An invitation to enter a new field of physics. Miniaturization\ Ed. By H.D. Hilbert, Reinhold. N.Y., USA, 1961.
2. *Drexler E.* Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology. Anchor Books, N. Y., 1986, 255 p.
3. *Эрве Демэ.* Экологию сельского хозяйства спасут нанотехнологии. <http://ecopeak.ru/arts/1621>.
4. *Глазко В.И., Белопухов С.Л.* Нанотехнологии в сельском хозяйстве. М., РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева, 2008, 112 с.
5. *Зайцев С.Ю.* Супрамолекулярные наноразмерные системы на границе раздела фаз. Концепции и перспективы для бионанотехнологий. М.: ЛЕНАНД, 2010. 208 с.
6. *Ратнер Марк, Ратнер Даниэль.* Нанотехнология: простое объяснение очередной гениальной идеи. М.: Вильямс, 2006. С. 240.
7. *Малинецкий Г.Г.* Нанотехнологии. От алхимии к химии и дальше // Интеграл. 2007, № 5. С. 4-5.
8. *Жоаким К., Плеввер Л.* Нанонауки. Невидимая революция. М.: КоЛибри, 2009.

*Контактная информация:
Пурто Е.Е. 8-916-849-35-85*