

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77-36472 от 3 июня 2009 г. Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК Министерства образования и науки РФ

## ОГЛАВЛЕНИЕ

### Главный редактор

**Чуваев И. В.,**  
канд. биол. наук  
e-mail: virclin@mail.ru

### Технический редактор

**Волхонская М. В.**  
e-mail: invetbio@yandex.ru

### Редакционный совет

**Алиев А. А.,**  
проф., докт. вет. наук

**Андреева Н. Л.,**  
проф., докт. биол. наук

**Белова Л. М.,**  
проф., докт. биол. наук

**Васильев Д. Б.,**  
докт. вет. наук

**Воронин В. Н.,**  
проф., докт. биол. наук

**Кудряшов А. А.,**  
проф., докт. вет. наук

**Кузьмин В. А.**  
проф., докт. вет. наук

**Панин А. Н.,**  
проф., докт. вет. наук,  
акад. РАСХН

**Прудников В. С.,**  
проф., докт. вет. наук,

**Сулейманов С. М.,**  
проф., докт. вет. наук,  
заслуж. деятель науки РФ

**Яшин А. В.,**  
проф., докт. вет. наук

По вопросам размещения  
рекламы обращайтесь  
к Марии Волхонской  
по тел. (812) 232-55-92,  
8 (921) 095-89-27,  
e-mail: invetbio@yandex.ru

Заявки на подписку (с любого  
месяца) направляйте в редакцию  
по факсу: (812) 232-55-92;  
e-mail: invetbio@yandex.ru.  
Телефон отдела подписки:  
(812) 232-55-92

Журнал основан в 2009 г.  
Учредитель и издатель:  
НОУ ДО «Институт  
Ветеринарной Биологии»

### АНАТОМИЯ

- Былинская Д. С.** Морфология костей тазовой конечности рыси евразийской ..... 3
- Первенецкая М. В., Фоменко Л. В.** Видовые особенности венозного оттока от легких у курицы, утки и гуся ..... 10
- Прусаков А. В.** Особенности анатомии артериального русла головного мозга козы зааненской породы ..... 13

### ЦИТОЛОГИЯ

- Мазуркевич А. И., Малюк Н. А., Безденежных Н. А., Харкевич Ю. А., Адаменко И. Н., Кудрявец Ю. И.** Иммунофенотипический профиль мультипотентных стволовых клеток костного мозга собаки при культивировании in vitro на ранних пассажах ..... 17

### ГЕНЕТИКА

- Базельюк Н. Н., Мухамедова Р. М., Козлова Н. В., Файзулина Д. Р.** Коллекция эталонных генетических материалов осетровых (Acipenseridae) Волжско-Каспийского бассейна ..... 23

### ИММУНОЛОГИЯ

- Абдуллоев Х. С., Фролов С. В., Дандал А. Ш., Кулаков В. Ю.** Сравнение гомо- и гетерологичных реакций иммунных сывороток, полученных на штаммы «Н-120», «D-274» и «4/91» вируса инфекционного бронхита кур ..... 27
- Сейсенбаева М. С., Кошеметов Ж. К., Сандыбаев Н. Т., Нурабаев С. Ш., Матвеева В. М., Богданова М. И., Сугирбаева Г. Д.** Приготовление диагностических препаратов для иммуноферментного анализа с целью выявления антигена возбудителя пастереллеза ..... 33

### ПАЗИТОЛОГИЯ

- Беспятова Л. А., Бугмырин С. В.** Численность Ixodes trianguliceps (Acari: Ixodidae) и роль разных видов мелких млекопитающих в его прокармливании при лесовозобновлении в таежных экосистемах ..... 40

### ФАРМАКОЛОГИЯ

- Антипов А. А., Дельцов А. А., Уразаев Д. Н.** Влияние энтеральных лекарственных препаратов с различной химической природой соединений железа на морфологию селезенки крыс при изучении острой токсичности ..... 47
- Кузнецов Ю. Е., Никонова Э. Б., Новиков Д. Д.** Токсикологические свойства препарата Эмидонол 10 % ..... 53
- Куцан А. Т., Оробченко А. Л., Романько М. Е.** Токсикокинетика марганца в организме крыс после введения нанокмполита металлов (Ag, Cu, Fe, двуокись Mn) с кормом в условиях хронического эксперимента ..... 57
- Нечаева Т. А.** Применение пробиотика Ветом 1.1 при выращивании молоди форели в установках с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ) ..... 65
- Огородник Н. З.** Влияние препаратов «Липовит» и «Тривит» на клеточное и гуморальное звено неспецифической резистентности ремонтных свинок ..... 70

### ПАТАНАТОМИЯ

- Володина В. В., Грушко М. П., Федорова Н. Н.** Анализ гистологического строения паренхиматозных органов каспийского тюленя ..... 74
- Кудряшов А. А., Максимов Т. П., Балабанова В. И., Выдрин М. И.** Патологоанатомическая дифференциальная диагностика болезней свиней с желудочно-кишечным синдромом в условиях промышленного комплекса ..... 82

- ИНФОРМАЦИЯ** ..... 90

### Издательство Института Ветеринарной Биологии

Адрес редакции/издателя: 197198, С.-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б. Тел. (812) 232-55-92, тел./факс 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Сайт: www.invetbio.spb.ru  
Подписано в печать 11.03.2014. Дата выхода: 20.03.2014. Отпечатано в типографии ООО «Агентство ИНФО ОЛ»: 197101, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, д. 1.  
Тираж 1000 экз. Свободная цена. Подписной индекс в каталоге «Газеты. Журналы» – 33184, «Пресса России» – 29447.

Ответственность за достоверность представленных в статьях данных несут авторы. Все рекламируемые товары и услуги имеют соответствующие сертификаты.  
За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.

© Институт Ветеринарной Биологии, Санкт-Петербург, 2014

The journal is registered by Federal Service for Supervision in the Sphere of Communications, Information Technologies and Mass Communications. The certificate on registration of mass media ПИ № ФС77-36472 of June 3, 2009. The journal is included in the list of the leading peer-reviewed journals and publications of State Commission for Academic Degrees and Titles of the RF Ministry of Education and Science

## CONTENTS

### Editor-in-Chief

**Chuvaev I. V.,**  
Philosophy Doctor  
e-mail: virclin@mail.ru

### Technical Editor

**Volkhonskaya M. V.**  
e-mail: invetbio@yandex.ru

### Editorial Board

**Aliev A.A.,**  
Doctor of Science, Professor

**Andreeva N. L.,**  
Doctor of Science, Professor

**Belova L. M.,**  
Doctor of Science, Professor

**Kudryashov A.A.,**  
Doctor of Science, Professor

**Kuzmin V. A.**  
Doctor of Science, Professor

**Panin A.N.,**  
Doctor of Science, Professor,  
Member of RAAS

**Prudnikov V. S.,**  
Doctor of Science, Professor

**Suleymanov S. M.,**  
Doctor of Science, Professor  
RF Honoured Worker of Science

**Vasilyev D. B.,**  
Doctor of Science

**Voronin V. N.,**  
Doctor of Science, Professor

**Yashin A. V.,**  
Doctor of Science, Professor

On the matters of advertisement  
please contact

Maria Volkhonskaya  
by tel. +7 (812) 232-55-92,  
e-mail: invetbio@yandex.ru

Subscription requests should be  
sent to the editorial office by fax  
+7 (812) 232-55-92 or e-mail:  
invetbio@yandex.ru.  
Information tel. +7 (812) 232-55-92

### The journal is based in 2009

Founder and Publisher: Institute of  
Veterinary Biology, Non-Commercial  
Educational Institution of Further  
Education

### ANATOMY

- Bylinskaya D. S.** Morphology of the Bones of Pelvic Limb of Eurasian Lynx ..... 3  
**Pervenetskaya M. V., Fomenko L. V.** Specific features of the venous outflow from the lungs  
of hen, duck and goose ..... 10  
**Prusakov A. V.** The Anatomy of the Cerebral Arterial Bed of Zaanen Goats ..... 13

### CYTOLOGY

- Mazurkevych A. I., Maliuk N. A., Bezdniezhnykh N. A., Kharkevych Yu. A., Adamenko I. N.,  
Kudriavets Yu. I.** Immunophenotypic Profile of Multipotent Stem Cells of the Bone Marrow  
of Dog During Cultivation in Vitro on the Early Passages ..... 17

### GENETICS

- Bazeluk N. N., Mukhamedova R. M., Kozlova N. V., Faizulina D. R.** Reference Collection of Genetic  
Material of Sturgeon (Acipenseridae) of the Volga-Caspian Basin ..... 23

### IMMUNOLOGY

- Abduloev H. S., Frolov S. V., Dandal A. Sh., Kulakov V. Yu.** Comparison of Homo- and  
Heterologous Reactions of Antisera Prepared Against "D274", "4/91" and "H-120" Strains  
of Infectious Bronchitis Virus ..... 27  
**Seisenbayeva M. S., Koshemetov Zh. K., Sandybayev N. T., Matveyeva V. M.,  
Bogdanova M. I., Sugirbayeva G. D.** Preparation of Diagnostic Products for ELISA Aiming  
to Detect the Antigen of Pasteurellosis Agent ..... 33

### PARASITOLOGY

- Bespyatova L. A., Bugmyrin S. V.** Ixodes Trianguliceps (Acari: Ixodidae) Abundances  
and the Role of Different Small Mammal Species as its Hosts in the Course of Reforestation  
in Boreal Ecosystems ..... 40

### PHARMACOLOGY

- Antipov A. A., Deltsov A. A., Urazaev D. N.** Comparative Morphological Study of the Effect  
of Different Types of Medications for Enteral Administration of Iron on the Spleen of Rats ..... 47  
**Kuznetsov Yu. E., Nikonova E. B., Novikov D. D.** Toxicological Properties of the Drug  
Imidonol 10 % ..... 53  
**Kutsan A. T., Orobchenko A. L., Roman'ko M. Ye.** Toxicokinetics of Manganese in Rats  
After Administration of a Metal Nanocomposite (Ag, Cu, Fe, Mn Dioxide) With Feed  
in the Chronic Experiment ..... 57  
**Nechaeva T. A.** The Use of Probiotic Vetom 1.1 for Growing Young Fish Trout in Recirculating  
Aquaculture System ..... 65  
**Ogorodnik N. Z.** The Influence of Preparations "Lipovit" and "Trivit" on the Cellular  
and Humoral Components of Nonspecific Resistance of Replacement Gilts ..... 70

### PATHOLOGIC ANATOMY

- Volodina V. V., Grushko M. P., Fedorova N. N.** The Analysis of Histological Structure  
of Parenchymatous Organs of the Caspian Seal ..... 74  
**Kudryashov A. A., Maximov T. P., Balabanova V. I., Vydrina M. I.** Anatomicopathological  
Differential Diagnostics of Gastroenteric Syndrome in Swine at Industrial Livestock Complex ..... 82

- INFORMATION** ..... 90

### Publishing of Institute of Veterinary Biology

Address of the editorial office/publisher: 197198, St.-Petersburg, Oranienbaumskaya st., 3-5. Tel. +7 (812) 232-55-92, fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru  
Signed for press on 11.03.2014. Issue date: 20.03.2014. Printed at printing house "Agency INFO OL": 197101, Russia, Saint-Petersburg, Rentgena st., 1. Circ. 1000 pc.  
Free price. The subscription index in catalogues: "Gazety. Journaly" ("Newspapers. Magazines") – 33184, "Pressa Rossii" ("Russian Press") – 29447.

The responsibility for reliability of the data presented in the articles is born by authors. Goods and services  
advertised in this magazine are properly certified. Editorial staff is not responsible for the content of any advertisements.

© Institute of Veterinary Biology, Saint-Petersburg, 2014

УДК 591.471.37:599.742.75

Ключевые слова: бедренная кость, большая берцовая кость, заплюсна, малая берцовая кость, плюсна, стопа, таз  
 Key words: femur, tibia, tarsus, fibula, metatarsal, foot, pelvis

Былинская Д. С.

## МОРФОЛОГИЯ КОСТЕЙ ТАЗОВОЙ КОНЕЧНОСТИ РЫСИ ЕВРАЗИЙСКОЙ MORPHOLOGY OF THE BONES OF PELVIC LIMB OF EURASIAN LYNX

ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5. Тел. (812) 387-67-69

Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine

Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5. Tel. +7 (812) 387-67-69

Былинская Дарья Сергеевна, аспирант каф. анатомии животных  
 Bylinskaya Daria S., Postgraduate of the Dept. of Animal Anatomy

**Аннотация.** Проведенным исследованием установили, что морфология костей тазовой конечности рыси евразийской имеет особенности, характерные для хищников, связанные с условиями обитания данного вида. Кости имеют характерную удлиненно-изогнутую форму, обусловленную биомеханикой прикрепления и функционирования динамических мышц. Кости пластинчатой формы сжаты с боков, представляют собой рычаги в локомоторном аппарате.

**Summary.** The study found that the morphology of the pelvic limb bones of the Eurasian lynx has features characteristic of predators. They are related to the terms of this type of habitat. The bones of the pelvic limb of this mammal have a characteristic elongated, curved shape to attach typically dynamic muscles. Bone plate-shaped and laterally compressed representing levers in locomotor apparatus.

### Введение

Евразийская рысь принадлежит к отряду хищных, к семейству кошачьих. Рысь – типичная кошка, хотя величиной с крупную собаку, которую отчасти и напоминает своим заметно укороченным телом и длинноногостью.

Рыси (*Lynx*) – род хищных млекопитающих семейства кошачьих, наиболее близкий к роду собственно кошек (*Felis*). Рысь – хищная кошка с кисточками на ушах, пышными бакенбардами, коротким хвостом и непропорционально длинными задними лапами. Род рысей содержит четыре вида животных, схожих внешне и отличающихся адаптацией к различным территориально-климатическим зонам [7].

К роду рысей относятся несколько кошек средних размеров:

- евразийская, или обыкновенная, рысь (*Lynx lynx*);
- канадская рысь (*Lynx canadensis*);
- испанская (иберийская) рысь (*Lynx pardinus*).

Иногда к роду *Lynx* относят также каракала (*Caracal caracal*) и мраморную кошку (*Pardofelis marmorata*) [6].

Отмечено снижение популяции рыси во многих странах.

Ресурсы рыси в России, по данным мониторинга ресурсов охотничьих животных России в сезоне 2009–2010, составляет 32,2 тыс. особей [2].

Мех рыси всегда ценился высоко, а начиная с 50-х годов XX века цены на него на международном рынке постоянно повышаются, тем самым возрастает как промысловое значение рыси, так и разведение ее в питомниках.

Появилась необходимость детального изучения морфологии этого вида животных.

Цель нашей работы – определить топографию, морфологию костей тазовой конечности и провести морфометрический анализ данной области.

### Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 15 рысей в возрасте от 5 до 10 лет, доставленные на кафедру анатомии животных с зверосовхоза «Салтыковский» Московской области.

В исследовании использовали комплекс морфологических методов исследования

и подготовки трупного материала: аутопсию, тонкое анатомическое препарирование; фотографирование; морфометрию костей [4].

## Результаты и обсуждение

Пояс костей тазовой конечности рыси евразийской состоит из трех парных костей: подвздошной, лонной и седалищной, которые объединяются в правую и левую тазовые (безымянные) кости – *ossa coxae*.

Подвздошная кость – *os ilium* – разделяется на округлое тело (*corpus ossis ilii*) и широкое крыло (*ala ossis ilii*). На крыле различают две поверхности. Наружная, или ягодичная, поверхность (*facies glutea*) ложечкообразно углублена, разделена дугообразной ягодичной линией (*linea glutea*) на вентролатеральную и дорсомедиальную части. Внутренняя, или крестцово-тазовая, поверхность (*facies sacropelvina*) разделена дуговой линией на каудомедиальную ушковидную поверхность (*facies auricularis*) и дорсолатеральную подвздошную поверхность (*facies iliaca*). Обе поверхности крыла подвздошной кости сходятся в краниодорсальном направлении в подвздошном гребне (*crista iliaca*). Ширина крыла у взрослых рысей в среднем составляет  $2,70 \pm 0,18$  см. Тело подвздошной кости продолжается каудовентрально и принимает участие в формировании суставной впадины. Медиальный край тела и крыла подвздошной кости вогнут и носит название большой седалищной вырезки (*incisura ischiadici major*). Каудально вырезки ограничивается значительно возвышающейся седалищной остью (*spina ischiadica*). Ширина тела подвздошной кости в дорсовентальной плоскости у рыси евразийской в среднем составляет  $2,41 \pm 0,16$  см.

Лонная кость (*os pubis*) состоит из тела, краниальной и каудальной ветвей. Тело короткое, участвует в образовании медиального края вертлужной впадины. На вентральной поверхности, в месте соединения тел лонных костей, имеется вентральный лонный бугорок. На переднем крае краниальной ветви располагается гребень лонной кости (*pectin ossis pubis*), к нему прикрепляется прямая мышца живота. Каудальные ветви срастаются своими шовными поверхностями и форми-

руют часть тазового симфиза. Обе ветви принимают участие в формировании запятого отверстия. Толщина краниальной ветви лонной кости в среднем равняется  $4,49 \pm 0,34$  см, ширина –  $0,89 \pm 0,07$  см. Толщина каудальной ветви лонной кости в среднем составляет  $0,86 \pm 0,06$  см, ширина –  $0,73 \pm 0,04$  см.

Седалищная кость (*os ischii*) имеет форму сдавленной по середине треугольной призмы. На ней различают тело (*corpus ossis ischii*) и две ветви. Тело несет дорсально малую седалищную вырезку (*incisura ischiadici minor*) пологой формы. Краниальная ветвь (шовная) соединяется с одноименной ветвью противоположной стороны, каудальная ветвь (впадинная) участвует в образовании суставной впадины. Каудальный край правой и левой седалищных костей дугообразно «вырезан», в связи с чем называется седалищной дугой (*arcus ischiadicus*). Дорсокаудально седалищная кость заканчивается одноименными буграми. Расстояние между седалищными буграми у взрослых рысей в среднем составляет  $7,83 \pm 0,69$  см. Глубина седалищной дуги в среднем равняется  $1,41 \pm 0,13$  см. Запёртое отверстие (*foramen obturatorium*) овальной формы, его диаметр в медиолатеральной плоскости в среднем составляет  $2,38 \pm 0,21$  см, в краниокаудальной плоскости в среднем равняется  $4,18 \pm 0,39$  см. Форма суставной впадины округлая, глубина в среднем составляет  $1,36 \pm 0,12$  см.

Бедренная кость – *os femoris* – крупная трубчатая кость, служащая главным рычагом в локомоции. Длина ее в среднем у рыси евразийской составляет  $23,54 \pm 1,98$  см. Она имеет S-образный изгиб с выпуклостью в краниальном направлении.

На бедренной кости различают тело – *corpus ossis femoris* – и два эпифиза – проксимальный и дистальный – *epiphisis proximalis et distalis*. Диаметр диафиза бедренной кости в средней части составляет  $4,84 \pm 0,45$  см, верхней части проксимальной трети –  $5,78 \pm 0,52$  см, дистальной трети –  $5,23 \pm 0,49$  см.

Проксимальный конец кости несет полушаровидную головку бедренной кости – *caput femoris*, обращенную медиально, несущую на вершине ямку головки – *fossa*

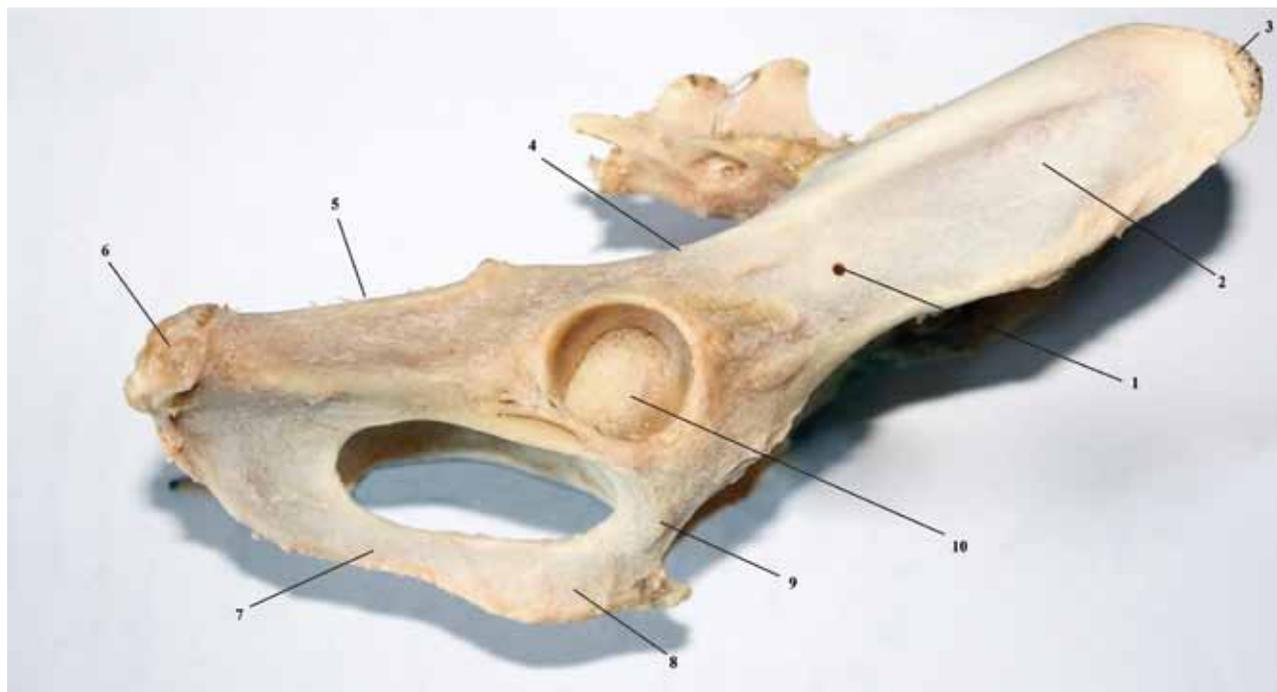


Рис. 1. Тазовая кость: 1 – тело подвздошной кости; 2 – крыло подвздошной кости; 3 – подвздошный гребень; 4 – большая седалищная вырезка; 5 – малая седалищная вырезка; 6 – седалищный бугор; 7 – каудальная ветвь лонной кости; 8 – тело лонной кости; 9 – краниальная ветвь лонной кости; 10 – лонная дыра.

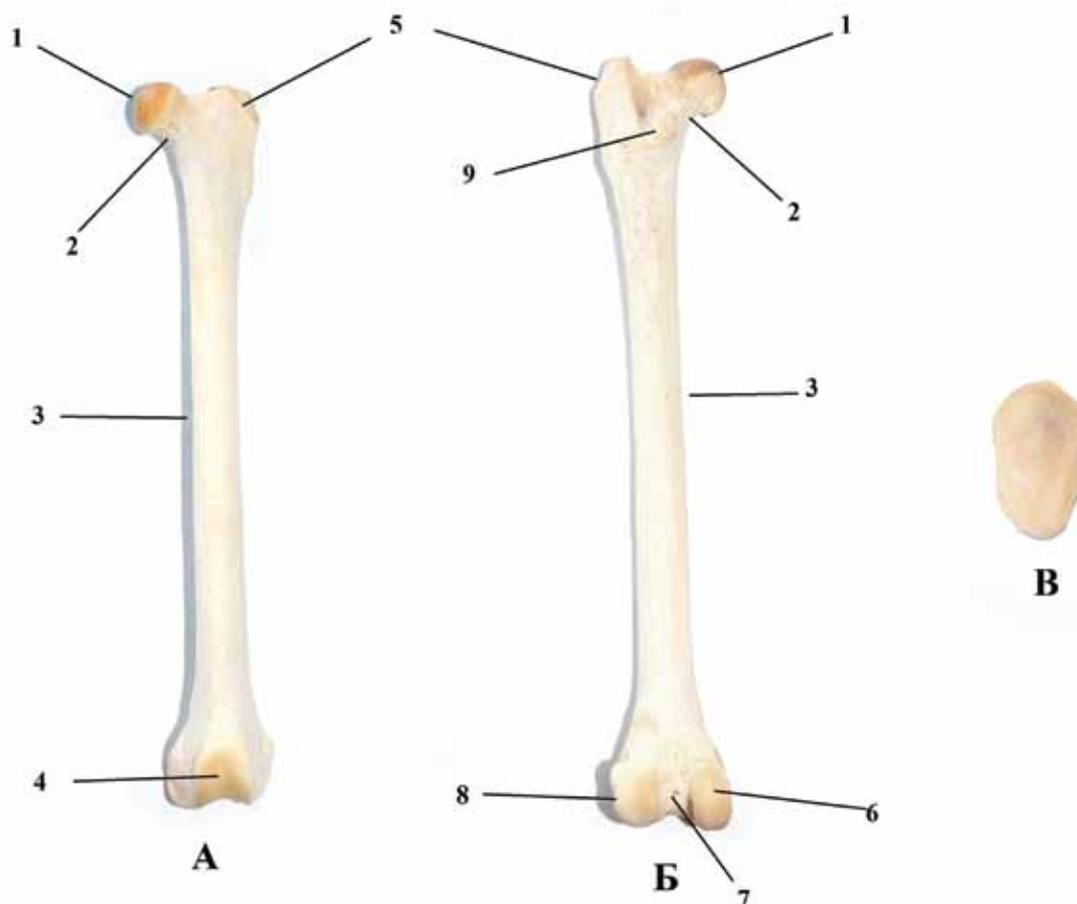


Рис. 2. Бедренная кость: А – бедренная кость (дорсальная поверхность); Б – бедренная кость (плантарная поверхность); В – коленная чашка; 1 – головка бедренной кости; 2 – шейка бедренной кости; 3 – тело бедренной кости; 4 – блок бедренной кости; 5 – большой вертел; 6 – медиальный мыщелок; 7 – межмыщелковая ямка; 8 – латеральный мыщелок; 9 – малый вертел; 10 – лонная дыра.



Рис. 3. Скелет голени: А – большая берцовая кость; Б – малая берцовая кость; 1 – латеральный мыщелок; 2 – медиальный мыщелок; 3 – гребень большой берцовой кости; 4 – медиальная лодыжка; 5 – суставной блок; 6 – латеральная лодыжка; 7 – головка малой берцовой кости.

*capitis*. Диаметр головки бедренной кости –  $5,93 \pm 0,54$  см. Головка бедренной кости четко отграничена от тела шейкой бедренной кости – *collum ossis femoris*. Латерально от головки и шейки бедра, на одном уровне с головкой располагается большой вертел – *trochanter major*. Его латеральная поверхность бугристая и служит местом прикрепления ягодичных мышц. От большого вертела дистально простирается межвертлужный гребень – *crista intertrochanterica*, ограничивающий неглубокую вертлужную ямку – *fossa trochanterica*. Дистальнее шейки бедра с медиальной поверхности и уже на теле кости располагается малый вертел – *trochanter minor*.



Рис. 4. Скелет стопы: 1 – пяточная кость; 2 – таранная кость; 3 – центральная кость заплюсны; 4 – первая кость заплюсны; 5 – вторая кость заплюсны; 6 – третья кость заплюсны; 7 – четвертая + пятая кость заплюсны; II – вторая плюсневая кость; III – третья плюсневая кость; IV – четвертая плюсневая кость; V – пятая плюсневая кость; 8 – дорсальные сесамовидные кости; 9 – проксимальная фаланга; 10 – средняя фаланга.

Дистальный сильно утолщенный эпифиз бедренной кости характеризуется наличием двух суставных мыщелков – *condylus lateralis et medialis*. Они отделены друг от друга глубокой межмыщелковой ямкой – *fossa intercondylaris*, на дне которой располагаются углубления для прикрепления крестовидных связок. Дорсально над мыщелками находится надмыщелковая шероховатость. По бокам мыщелки несут неровные выступы – латеральный и медиальный надмыщелки – *epicondylus lateralis et medialis*;

к ним прикрепляются боковые связки коленного сустава и держатели коленной чашки. На боковой поверхности латерального надмыщелка лежат две ямки: большая разгибательная ямка – *fossa extensoria* – для разгибателей пальцев и третьей малоберцовой мышцы находится на границе между мыщелком и блоковым гребнем; и меньшая – ямка подколенной мышцы – *fossa m. poplitei* – для прикрепления одноименной мышцы лежит на латеральной поверхности латерального мыщелка. Дорсально над мыщелками находится надмыщелковая шероховатость.

Суставная поверхность мыщелков в дорсокраниальном направлении суживается и переходит в блок бедренной кости – *trochlea ossis femoris*. Он имеет вид сагиттального желоба, ограниченного латеральным и медиальным блоковыми гребнями. Из них медиальный выдается в сторону тела кости и несколько утолщен. По этому желобу скользит во время движения коленная чашка, а во время покоя она заходит на медиальный гребень и удерживается на нем благодаря наличию специальной площадки. Дистально под латеральным гребнем блока располагается разгибательная ямка. Ширина и высота блока надколенника в среднем составляют соответственно  $1,75 \pm 0,15$  см и  $2,56 \pm 0,23$  см.

Дорсально над мыщелками бедренной кости имеется по суставной ямке для сесамовидных костей: сесамовидной кости икроножной мышцы – *os sesamoideum m. gastrocnemii* – и сесамовидной кости подколенной мышцы – *os sesamoideum m. poplitei*.

Коленная чашка (*patella*) – самая крупная сесамовидная кость, грушевидной формы, с направленной дистально верхушкой и несколько расширенным, дистально направленным основанием. Краниальная поверхность коленной чашки дугообразно изогнута вперед и служит местом прикрепления четырехглавой мышцы бедра. Каудальная поверхность (суставная) – вогнутая. Длина коленной чашки в среднем равняется  $2,60 \pm 0,23$  см.

Скелет голени (*skeleton cruris*) представлен самыми длинными костями скелета – большой и малой берцовыми. Длина

большой берцовой кости в среднем составляет  $23,69 \pm 1,98$  см, а малой берцовой –  $22,96 \pm 1,76$  см.

Большая берцовая кость (*tibia*) имеет тело и два эпифиза. Самую массивную ее часть составляет проксимальный эпифиз с латеральным и медиальным мыщелками (*condylus lateralis et medialis*). Каждый из них снабжен слабо вогнутой суставной поверхностью для сочленения с мыщелками бедренной кости. Поверхности отделены друг от друга межмыщелковым возвышением (*eminentia intercondylaris*). Плантарно между мыщелками лежит подколенная вырезка (*incisura poplitea*). Тело большой берцовой кости трехгранной формы, его ширина с латеромедиальной поверхности в среднем составляет  $1,30 \pm 0,12$  см, с дорсовентральной поверхности –  $1,44 \pm 0,13$  см. На дистальном эпифизе имеет суставной блок, с медиальной стороны которого выдается медиальная лодыжка (*malleolus medialis*).

Малая берцовая кость (*fibula*) – тонкая, треугольной формы кость, лежит на латеральной стороне большой берцовой кости; проксимальный утолщенный конец образует головку (*caput fibulae*) с суставной поверхностью для соединения с большой берцовой костью. Тело малой берцовой кости шероховатым медиальным краем повернуто к большой берцовой кости. Дистальный конец кости вытянут, образует латеральную лодыжку (*malleolus lateralis*), несущую на внутренней стороне суставную поверхность для соединения с большой берцовой костью и на дистальном конце – суставную поверхность для таранной кости заплюсны. Ширина тела малой берцовой кости с дорсовентральной поверхности в среднем равняется  $0,40 \pm 0,03$  см, с медиолатеральной –  $0,23 \pm 0,01$  см.

Кости заплюсны (*ossa tarsi*) располагаются в три ряда между костями голени и плюсны.

Проксимальный ряд представлен двумя крупными костями: таранной (*talus*) и пяточной (*calcaneus*). Таранная кость располагается с медиальной стороны, имеет несколько суставных площадок для соединения с другими костями заплюсны, впереди находится суставной блок для соединения с большой берцовой костью. Длина таранной кости

в среднем составляет  $2,78 \pm 0,24$  см. Пяточная кость располагается с латеральной стороны, от ее тела назад выступает пяточный отросток (*processus calcanei*). Последний оканчивается значительным утолщением – пяточным бугром (*tuber calcanei*). Длина пяточной кости в среднем составляет  $5,43 \pm 0,51$  см.

В центральном ряду располагается центральная кость заплюсны (ладьевидная кость) – *os tarsi centrale (os naviculare)*.

В дистальном ряду заплюсны имеются четыре кости. Первая заплюсневая кость (медиальная клиновидная) – *os tarsale I (os cuneiforme mediale)* – плоская, треугольной формы; вторая заплюсневая кость (промежуточная клиновидная кость) – *os tarsale II (os cuneiforme intermedium)* – маленькая, похожа на клин, с направленным дорсально основанием. Третья заплюсневая кость (латеральная клиновидная кость) – *os tarsale III (os cuneiforma laterale)* – имеет треугольную форму с выступающим плантарно округлым отростком. Четвертая + пятая заплюсневая кость (кубовидная кость) – *os tarsale IV+V (os cuboideum)* представляет собой кость кубовидной формы.

Кости плюсны (*ossa metatarsi*) характеризуются сильным развитием второй, тре-

тью, четвертой и пятой плюсневых костей. Кости плюсны представляют собой трубчатые кости с незначительным утолщением проксимального и дистального эпифизов. На проксимальном эпифизе имеется плоская суставная поверхность для сочленения с заплюсневыми костями. Дистальный эпифиз плюсневых костей незначительно расширен и несет на себе суставной блок для соединения с первой фалангой.

Кости пальцев (*ossa digitorum*) являются продолжением лучей пясти. Каждый палец состоит из 3 фаланг: проксимальной, средней и дистальной. Материал для исследования доставлялся без кожи и когтей, поэтому изучение дистальных фаланг (когтевых костей) не представилось возможным.

## Выводы

На основании полученных результатов можно заключить следующее.

1. Для тазовой кости рыси евразийской характерно отсутствие крестцового и подвздошных бугров. Большой вертел бедренной кости не выступает за плоскость ее головки. В дистальной части каудальной поверхности бедра располагается надмышцелковая шероховатость.

2. В скелете голени хорошо развиты как большеберцовая, так и малая берцовая ко-

Таблица 1.

### Морфометрические показатели костей плюсны рыси евразийской

Плюсневая кость	Длина (в см, среднее значение)	Ширина (в см, среднее значение)
II	$9,07 \pm 0,89$	$0,65 \pm 0,05$
III	$10,03 \pm 0,89$	$0,72 \pm 0,06$
IV	$10,05 \pm 0,91$	$0,67 \pm 0,05$
V	$9,18 \pm 0,85$	$0,64 \pm 0,05$

Таблица 2.

### Морфометрические показатели проксимальных и средних фаланг скелета стопы рыси евразийской

Проксимальная фаланга	Длина (в см, среднее значение)	Средняя фаланга	Длина (в см, среднее значение)
II	$0,31 \pm 0,03$	II	$0,19 \pm 0,01$
III	$0,41 \pm 0,04$	III	$0,23 \pm 0,02$
IV	$0,37 \pm 0,03$	IV	$0,20 \pm 0,02$
V	$0,33 \pm 0,03$	V	$0,21 \pm 0,02$

сти. Малая берцовая кость на всем протяжении отстоит от большеберцовой, соединяясь с ней проксимальным и дистальным межголенными суставами.

3. Скелет стопы представлен: семью костями заплюсны, четырьмя костями плюсны. На тазовой конечности у рыси евразийской 4 пальца (отсутствует первый палец).

## Список литературы

1. Зеленовский, Н. В. Анатомия собаки и кошки / Н. В. Зеленовский, Г. А. Хонин. – СПб. : Периферия, 2009. – 198 с.

2. Колесников, В. В. Мониторинг ресурсов охотничьих животных России / В. В. Колесников, В. Н. Пиминов, М. Н. Андреев. – Кролиководство и звероводство. – 2011, № 3. – С. 30–32.

3. Кротов, Л. Н. Особенности анатомического строения тазобедренного сустава у собак / Л. Н. Кротов, А. И. – Подмогин, 2002.

4. Кудряшов, А. А. Патологоанатомическое вскрытие трупов животных. Часть 2. Техника исследования органов / А. А. Кудряшов // Ветеринарная практика. – 2005, № 1 (28). – С. 33–37.

5. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура / перевод и русская терминология проф. Н. В. Зеленовский. Ред. 4-я. – М. : Мир, 2003. – 352 с.

6. Найдено, С. В. Особенности размножения и постнатального развития евразийской рыси / С. В. Найдено. – Москва : Т-во научных изданий КМК, 2005. – 111 с.

7. Юдина, Е. В. Аспекты биологии и разведения енотовидной собаки, барсука, рыси и дальневосточного кота / Е. В. Юдина, В. Г. Юдин. – Владивосток : ДВО АН СССР. 1991.



НОУ ДО «Институт Ветеринарной Биологии»

приглашает ветеринарных специалистов принять участие в новом обучающем семинаре

## «КАРДИОЛОГИЯ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ»

12–16 мая 2014 г.

### ПЛАН ЗАНЯТИЙ

**Первый день.** Морфология и физиология сердечно-сосудистой системы. Первичное клиническое исследование сердца.

Осмотр. Перкуссия. Аускультация. Измерение давления

**Второй день.** Лабораторная диагностика в кардиологии. Клиническое значение лабораторных исследований и интерпретация полученных результатов. Рентгенодиагностика органов грудной клетки, сердца и паракардиальных структур

**Третий день.** Кардиореспираторные синдромы и дифференциальная диагностика кардиореспираторных патологий от цереброваскулярных, нейрогенных и эндокринных нарушений. Электрокардиография. Формирование нормальной ЭКГ. Параметры нормальной ЭКГ. Техника снятия ЭКГ. Знакомство с устройством электрокардиографа

**Четвертый день.** Кардиопатологии. Оптимизация диагностического исследования

**Пятый день.** Тестово-практическое занятие. Описание рентгеновских снимков грудной клетки и составление рентгенологического протокола. Расшифровка ЭКГ и составление ЭКГ-заключения

**Место проведения:** Санкт-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3, лит. Б

**Стоимость участия:** 25 000 р. (НДС не облагается); возможна оплата банковской картой в первый день семинара

**Предварительная запись** обязательна: по тел. +7 921 095-89-27, (812) 232-55-92  
e-mail: [invetbio@yandex.ru](mailto:invetbio@yandex.ru)

**Подробная информация** о семинаре, форма on-line заявки:

[www.invetbio.spb.ru/seminar\\_cardio.htm](http://www.invetbio.spb.ru/seminar_cardio.htm)



УДК 591.41:636.5

Ключевые слова: птицы, легкие, бронхиальные вены, межпарабронхиальные венулы

Keywords: birds, lungs, bronchial veins, intraprabronchial venules

Первенецкая М. В., Фоменко Л. В.

## ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЕНОЗНОГО ОТТОКА ОТ ЛЕГКИХ У КУРИЦЫ, УТКИ И ГУСЯ *SPECIFIC FEATURES OF THE VENOUS OUTFLOW FROM THE LUNGS OF HEN, DUCK AND GOOSE*

Институт ветеринарной медицины и биотехнологий  
Омского государственного аграрного университета им. П. А. Столыпина  
Адрес: 644122, Россия, г. Омск, ул. Октябрьская, 92  
*Institute of Veterinary Medicine and Biotechnology, P. A. Stolypin Omsk State Agrarian University  
Address: 644122, Russia, Omsk, Oktyabrskaya str., 92*

Первенецкая Марина Вениаминовна, аспирант  
*Pervenetskaya Marina V., Postgraduate*  
Фоменко Людмила Владимировна, д. в. н., доцент  
*Fomenko Ludmila V., Doctor of Veterinary Medicine, Associate Professor*

**Аннотация.** Изучены источники венозного оттока легких у курицы, утки и гуся, проведены морфометрические исследования интраорганных вен легких.

**Summary.** We studied the sources of venous outflow from the lungs of hen, duck and goose and conducted morphometric research of intraorgan veins of the lungs.

### Введение

Кровеносная система как важнейшая функциональная система организма издавна привлекала внимание морфологов. Однако несмотря на значительные достижения в морфологии до сих пор остается ряд нерешенных вопросов, связанных с интраорганным разветвлением венозных сосудов легких птиц.

Изучение венозной системы легких птиц относится к одному из важнейших и наиболее трудных разделов морфологии, в том числе в отношении познания разветвления вен, а также представляет определенный интерес как для теоретического, так и для практического обоснования. Выяснение видовых особенностей строения венозной системы легких у птиц приобретает важное значение при установлении их видовой нормы, которая является гармоничной совокупностью структурно-функциональных особенностей строения организма птиц, адаптированных к окружающей среде и обеспечивающих организму оптимальную жизнедеятельность.

Анализируя доступную литературу отечественных [1, 2] и зарубежных [3, 4] авторов, мы убеждаемся, что вопросы морфологии

легочных вен изучены крайне недостаточно. Имеющиеся данные по венозному оттоку из легких птиц немногочисленны и противоречивы.

### Материалы и методы

Для изучения сосудов, участвующих в источниках венозного оттока легких, изготавливали коррозионные препараты методом наливки через легочную вену самотвердеющей пластмассой «Карбопластом». Для придания сосудам необходимого цвета в мономер добавляли синюю масляную краску. Коррозию мягких тканей легких птиц проводили в 15–20 % растворе каустической соды, затем препарат промывали в теплой воде, просушивали.

### Результаты исследований

В результате проведенных исследований нами отмечено, что отток интраорганный венозной крови в легочные вены легкого осуществляется притоками из трех ветвей: краниодорсальной, каудовентральной и каудодорсальной, а у утки и гуся домашних — пятью ветвями: краниодорсальной, дорсальной, каудовентральной, каудодорсальной,

дорсальной. Правый и левый общие легочные стволы открываются в левое предсердие двумя самостоятельными отверстиями.

От краниодорсального угла легких собирается венозная кровь по межпарабронхиальным венулам. Вливаясь под тупым углом в  $105\text{--}110^\circ$ , они образуют межпарабронхиальные вены второго порядка, которые вливаются по магистральному типу в количестве 23–29 штук у курицы и 35–40 штук у утки и гуся в межпарабронхиальные вены первого порядка. Притоки первого порядка в количестве 9–12 штук диаметром 0,31 мм вливаются в краниодорсальную бронхиальную вену диаметром  $0,39\pm 0,02$  мм у курицы,  $0,73\pm 0,05$  мм у утки и  $0,77\pm 0,05$  мм у гуся по магистральному типу.

От позвоночной поверхности легкого начинаются межпарабронхиальные венулы, окружающие парабронхи с дорсальной поверхности, которые в количестве 28–35 штук у утки и гуся диаметром  $0,021\text{--}0,023$  мм вливаются в парабронхиальные вены второго порядка под тупыми углами. Притоки парабронхиальных вен второго порядка вливаются в бронхиальные вены первого порядка в количестве 18–22 штук у утки и гуся диаметром  $0,25\text{--}0,32$  мм, образуя дорсальную бронхиальную вену диаметром  $0,46\pm 0,03$  мм у утки и  $0,51\pm 0,01$  мм у гуся.

С каудодорсального угла легкого происходит отток венозной крови по межпарабронхиальным венулам, также расположенным с дорсальной поверхности парабронхов, которые проходят параллельно друг другу под углом  $98\text{--}105^\circ$ . Они вливаются в парабронхиальные вены второго порядка по магистральному типу в количестве 19–23 штук диаметром  $0,08\text{--}0,10$  мм у курицы и 30–32 штук диаметром от 0,15 до 0,18 мм у утки и гуся. Притоки парабронхиальных вен первого порядка в количестве 10–13 штук диаметром  $0,10\text{--}0,12$  мм у курицы и 17–20 штук диаметром  $0,20\text{--}0,22$  мм у утки и гуся вливаются в каудодорсальную бронхиальную вену диаметром  $0,45\pm 0,02$  мм у курицы,  $0,47\pm 0,01$  мм у утки и  $0,52\pm 0,01$  мм у гуся.

От каудовентрального угла легкого вливаются межпарабронхиальные венулы в парабронхиальные вены второго поряд-

ка под углом  $100\text{--}115^\circ$ , в которые вливаются бронхиальные вены первого порядка в количестве 9–12 штук диаметром  $0,10\text{--}0,12$  мм у курицы и 16–18 штук диаметром  $0,17\text{--}0,20$  мм у утки и гуся, образуя каудовентральную бронхиальную вену диаметром  $0,32\pm 0,04$  мм у курицы,  $0,33\pm 0,03$  мм у утки и  $0,37\pm 0,02$  мм у гуся.

От латеральной поверхности легкого оттекает кровь по латеральной бронхиальной вене диаметром  $0,22\pm 0,01$  мм у утки и  $0,27\pm 0,04$  мм у гуся, начинающейся межпарабронхиальными венулами, которые затем вливаются по магистральному типу в парабронхиальные вены второго порядка.

Парабронхиальные вены первого порядка ветвятся дихотомически, окружая с латеральной поверхности отходящий от мезобронха первый ветробронх, и вступают в легочную вену диаметром  $0,44\pm 0,01$  мм у курицы,  $0,92\pm 0,02$  мм у утки и  $0,99\pm 0,02$  мм у гуся, а затем в легочной ствол диаметром  $0,63\pm 0,01$  мм у курицы,  $0,95\pm 0,01$  мм у утки и  $1,02\pm 0,01$  мм у гуся.

Краниодорсальная и дорсальная бронхиальные вены сливаются между собой под острым углом, образуя краниальную легочную вену диаметром  $0,52\pm 0,01$  мм у утки и  $0,65\pm 0,02$  мм у гуся, а каудодорсальная и каудовентральная вены, соединяясь между собой, образуют каудальную легочную вену диаметром  $0,62\pm 0,03$  мм у утки и  $0,67\pm 0,01$  мм у гуся.

Вены легких у утки и гуся домашних представлены краниальной и каудальной легочными венами, выходящими двумя отверстиями из легких. В свою очередь краниальная легочная вена образована краниодорсальной и дорсальной бронхиальными венами, а каудальная легочная вена – путем слияния каудодорсальной и каудовентральной вен. В устье краниальной и каудальной легочных вен с ее латеральной поверхности вливается латеральная бронхиальная вена. Краниальная и каудальная легочные вены сливаются между собой, образуя правую легочную вену. У изученных птиц левая легочная вена вместе с правой впадает в левое предсердие сердца двумя отверстиями.

## Заключение

В результате проведенных исследований нами отмечено, что отток интраорганной венозной крови в легочные вены легкого формируются притоками у курицы из трех ветвей: краниодорсальной, каудовентральной и каудодорсальной, а у утки и гуся домашних – пятью ветвями: краниодорсальной, дорсальной, каудовентральной, каудодорсальной, дорсальной. Правый и левый общие легочные стволы впадают в левое предсердие сердца двумя самостоятельными отверстиями.

## Список литературы

1. Филонов, К. Е. Легкие и воздухоносные мешки у домашних и некоторых диких птиц: автореф. ... канд. вет. наук // К. Е. Филонов. – Львов, 1961. – 21 с.
2. Константинов, В. М. Сравнительная анатомия позвоночных животных: учеб. пособие // В. М. Константинов, С. П. Шаталова. – М.: Академия, 2005. – С. 286–300.
3. Nickel, R. Anatomy of Domestic Birds // R. Nickel, A. Schummer, E. Seiferle. – Berlin, Hamburg, 1977. – P. 78–80.
4. Makanya, A. N. Parabronchial angioarchitecture in developing and adult chickens // A. N. Makanya, V. Djonov / Journal of Applied Physiology. – 2009, V. 106. – P. 1959–1969.

реклама

## Сканеры УЗИ “РАСКАН”

*Достоверность, доступность и простота  
ультразвуковых исследований в ветеринарии*

Все виды исследований у крупных, средних и мелких животных. УЗИ домашних и экзотических животных и птиц. Контроль стельности в животноводстве и продуктивности в птицеводстве

*Полностью цифровая обработка. Высокая плотность лучей. Динамическая фокусировка. Доплер. Пунктирование. Кинопетля. Помощь. Персональные настройки. Все виды измерений. Вычисления. Заключение. Распечатка эхограмм. Архив. Ветеринарные расчеты и пиктограммы*



5,9 кг

*Переносные приборы с возможностями стационарных. Легкие (от 2,5 кг), компактные с автономным питанием. Кейс*



Конвексные, линейные, полостные мультичастотные датчики высокой плотности. Рабочие частоты от 2,5 до 10 МГц. Секторные датчики анулярные двухчастотные



3,7 кг



130225

*Планшетные приборы в брызгозащитном исполнении. Сенсорный экран. Ручка для переноски. Наплечный ремень*

Организованы курсы ветеринарные УЗИ

**НПП  
“РАТЕКС”**

С 1991  
года на рынке  
УЗИ

199178, С.-Петербург, ул. Донская, д. 19, пом.1Н  
Тел./факс: (812)321-89-74, 321-57-71, (950)030-30-41  
E-mail: [rateks@rateks.com](mailto:rateks@rateks.com) <http://rateks.com>

УДК 611.133.33:636.393.9

Ключевые слова: артерия, васкуляризация, головной мозг

Key words: artery, vascularization, brain

Прусаков А. В.

**ОСОБЕННОСТИ АНАТОМИИ АРТЕРИАЛЬНОГО РУСЛА  
ГОЛОВНОГО МОЗГА КОЗЫ ЗААНЕНСКОЙ ПОРОДЫ**  
*THE ANATOMY OF THE CEREBRAL ARTERIAL BED OF ZAAZEN GOATS*

ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Россия, ул. Черниговская, 5. Тел. (812) 387-67-69

*Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine**Address: 196084, Russia, Chernigovskaya str., 5. Tel. +7 (812) 387-67-69*

Прусаков Алексей Викторович, доцент каф. анатомии животных

*Prusakov Alexey V., Associate Professor of the Dept. of Animal Anatomy*

**Аннотация.** В результате проведенного исследования установили, что основными артериальными источниками кровоснабжения головного мозга у козы зааненской породы являются внутренняя сонная и основная мозговая артерии. Внутренняя сонная артерия на базальной поверхности головного мозга делится на ростральную соединительную и каудальную соединительную артерии, образуя вокруг гипофиза артериальное кольцо. Последнее у козы зааненской породы краниально не замыкается. Каждая ростральная соединительная артерия рострально переходит в ростральную мозговую артерию. По бокам от ростральной мозговой артерии каждая ростральная соединительная артерия последовательно с каждой стороны отдает ростральную артерию мозговой оболочки, среднюю мозговую артерию и ростральную артерию сосудистого сплетения.

Каудальная соединительная артерия дает начало каудальной мозговой артерии и каудальной артерии сосудистого сплетения. У козы зааненской породы в отличие от остальных животных (лошадь, собака, кошка, кролик, овца) от каудальной соединительной ветви отходят правая и левая ростральные артерии мозжечка. Каждая из них берет начало справа и слева от места впадения основной мозговой артерии в артериальное кольцо. Основная артерия мозга у козы зааненской породы образуется путем слияния ветвей правой и левой затылочных артерий (в основном участвуют в кровоснабжении ромбовидного мозга).

**Summary.** *The study found that the internal carotid artery (a. carotis interna) and the basilar cerebral artery (a. basilaris cerebri) are the main sources of arterial blood supply of the brain of Zaanen goats. The internal carotid artery on the basal surface of cerebrum divides into a rostral communicating artery (a. communicans rostralis) and a caudal connecting artery (a. communicans caudalis), forming an arterial ring (circulus arteriosus) around the pituitary. The latter doesn't close cranially in Zaanen goats. Each rostral communicating artery rostrally passes into the rostral cerebral artery (a. cerebri rostralis). On either side of the rostral cerebral artery each rostral communicating artery passes on at each side in series a rostral artery of the brain tunic (a. meningea rostralis), a middle cerebral artery (a. cerebri mediana) and a rostral artery of the vascular plexus (a. choroidea rostralis).*

*The caudal communicating artery gives rise to the caudal cerebral artery (a. cerebri caudalis) and the caudal artery of the blood vessel plexus (a. choroidea caudales). In Zaanen goats, unlike other animals such as a horse, a dog, a cat, a rabbit and a sheep, right and left rostral cerebellar arteries (a. cerebelli rostralis dextra et sinistra) rise from the caudal connecting branch. Each of them originates on the right and left of the place where the basilar cerebral artery flows in the arterial ring. The confluence of the branches of right and left occipital arteries (a. occipitalis dextra et sinistra) which are mainly involved in blood supply of the hindbrain forms the basilar cerebral artery of a Zaanen goat.*

**Введение**

История развития науки показывает, что прогресс знаний во многом зависит от разработки новых методов, подробного и точного изучения объекта исследования. Если взять такой чрезвычайно сложный орган как головной мозг, то наши сведения о морфологии, физиологии, динамической локализации центров регуляции многообразных систем организма до сегодняшнего времени

достаточно ограничены, в том числе у сельскохозяйственных животных [1, 2].

Подвергнув анализу доступные источники литературы [1, 2, 3, 4], мы сделали вывод, что основные источники артериального кровоснабжения головного мозга у козы зааненской породы не изучены. Есть лишь отрывочные данные, касающиеся этой проблемы.

Изучение особенностей кровоснабжения головного мозга имеет не только большое

прикладное, но и важное практическое значение, так как это необходимо для диагностики болезней головного мозга и лечения животных.

## Материалы и методы

Материалом для исследования послужили органы 4 коз зааненской породы в возрасте от двух до трех лет, доставленных на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВПО СПбГАВМ из фермерских хозяйств Ленинградской области. Для изучения артериальных источников кровоснабжения головного мозга провели инъекцию сосудистого русла головы через общую сонную артерию пластмассой для изготовления ортодонтических протезов «Редонт 03». Для предотвращения вытекания инъецируемой массы перед наливкой тампонировали поперечные каналы шейного отдела позвоночного столба и позвоночный канал.

После инъекции материал фиксировали в 10 % растворе формалина для лучшего заполнения мелких сосудов в течение 5 суток. В дальнейшем препараты подвергали коррозионной обработке в водном растворе гидроксида калия (в разведении 1 : 2) в течение 4–10 суток. В процессе коррозионной обработки проводили периодическое промывание препаратов в проточной воде для лучшего очищения полимерного отпечатка сосудов от лизированных окружающих тканей.

При обработке все мягкие ткани и кости черепа под действием гидроксида калия были растворены, остался лишь полимерный отпечаток сосудистого русла. В связи с тем, что пластмасса «Редонт 03» не дает усадки и не деформируется в процессе застывания, мы смогли провести достоверное измерение диаметра сосудов при помощи электронного штангенциркуля (Stainless hardened).

## Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования установили, что основными артериальными источниками кровоснабжения головного мозга у козы зааненской породы являются внутренняя сонная и основная мозговая артерии.

Внутренняя сонная артерия – *a. carotis interna* (диаметр  $2,18 \pm 0,13$  – здесь и далее

измерения приводятся в миллиметрах) – проникает в полость черепа через сонное отверстие и участвует в образовании чудесной сети основания черепа. В дальнейшем на базальной поверхности головного мозга она делится на ростральную соединительную артерию – *a. communicans rostralis* ( $1,06 \pm 0,15$ ) – и каудальную соединительную артерию – *a. communicans caudalis* ( $0,83 \pm 0,09$ ). Соединяясь с одноименными сосудами противоположной стороны, соединительные артерии образуют вокруг гипофиза артериальное кольцо (Виллизиев круг) – *circulus arteriosus (Villisii)*, которое у козы зааненской породы в отличие от других домашних животных (лошадь, собака, кошка, кролик, овца) краниально не замыкается.

Каждая ростральная соединительная артерия рострально в сторону мозолистого тела переходит в ростральную мозговую артерию – *a. cerebri rostralis*. Правая ( $0,63 \pm 0,08$ ) и левая ( $0,58 \pm 0,13$ ) ростральные мозговые артерии разветвляются в передних отделах полушарий и в обонятельных луковицах.

По бокам от ростральной мозговой артерии каждая ростральная соединительная артерия последовательно с каждой стороны отдает ростральную артерию мозговой оболочки, среднюю мозговую артерию и ростральную артерию сосудистого сплетения.

Правая ( $0,38 \pm 0,09$ ) и левая ( $0,33 \pm 0,08$ ) ростральная артерия мозговой оболочки – *a. meningea rostralis dextra et sinistra* – в области решетчатой кости образуют сеть, отдающую ветви для слизистой оболочки носовой полости.

Правая ( $0,65 \pm 0,11$ ) и левая ( $0,71 \pm 0,13$ ) средние мозговые артерии – *a. cerebri mediana dextra et sinistra* – поднимаются дорсально по боковой поверхности мозга в составе сильвиевой борозды. По своему ходу каждая из них активно ветвится почти на всей латеральной и вентральной поверхности полушария. Отдавая по своему ходу корковые и центральные ветви (*rr. corticales et centrales*), средние мозговые артерии снабжают кровью центральные извилины, нижнюю и большую часть средних лобных извилин, теменную

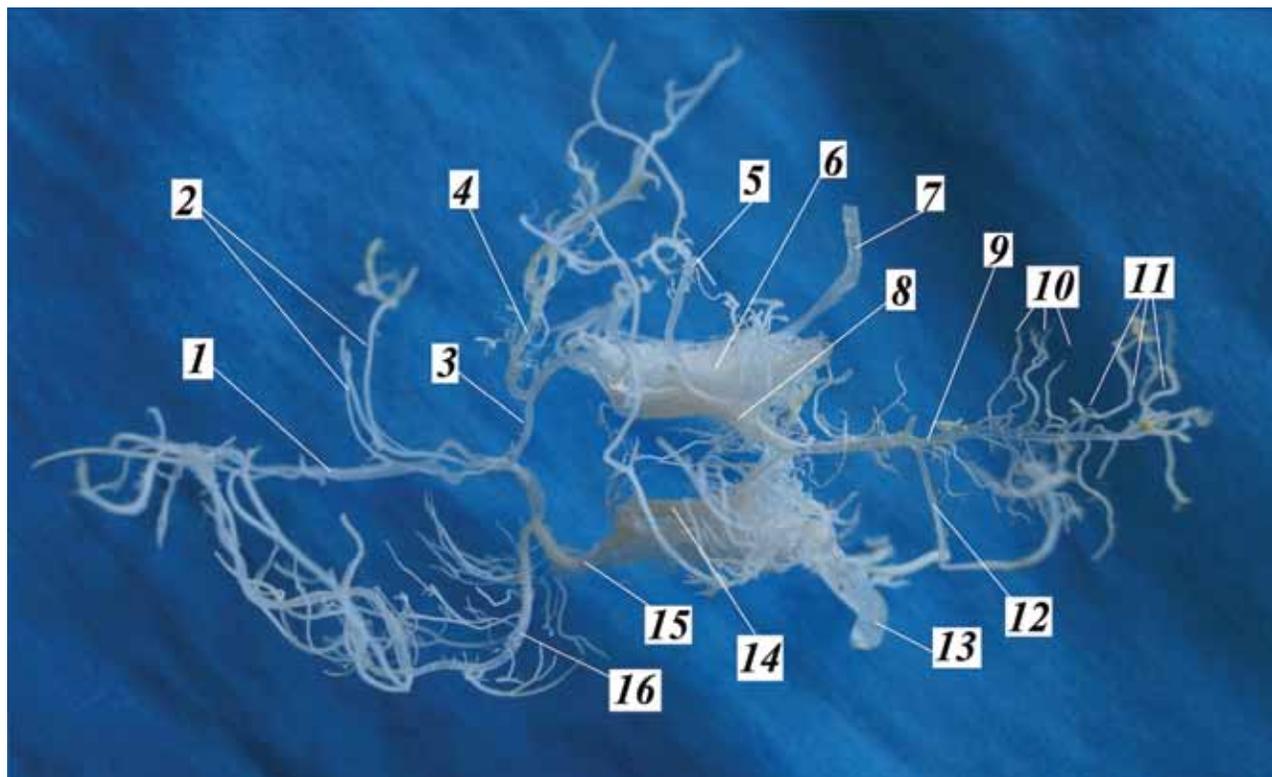


Рис. 1. Коррозионный препарат артерий головного мозга козы зааненской породы: 1 – рostrальная мозговая артерия; 2 – рostrальные артерии мозговых оболочек; 3 – правая рostrальная соединительная артерия; 4 – правая мозговая средняя артерия; 5 – правая каудальная мозговая артерия; 6 – чудесная артериальная сеть основания головного мозга; 7, 13 – ветви общих сонных артерий; 8 – правая каудальная соединительная артерия; 9 – основная мозговая артерия; 10 – артерии мозгового моста; 11 – артерии продолговатого мозга; 12 – левая каудальная артерия мозжечка; 14 – левая каудальная соединительная артерия; 15 – левая краниальная соединительная артерия; 16 – левая мозговая средняя артерия.

долю, а также верхнюю и среднюю височную извилины.

Правая ( $0,51 \pm 0,07$ ) и левая ( $0,49 \pm 0,11$ ) рostrальные артерии сосудистого сплетения – *a. choroidea rostralis dextra et sinistra* – по своему ходу отдают тонкие ветви к латеральному коленчатому телу, а также к ядрам гипоталамуса и зрительному тракту. Проходя по последнему, рostrальные артерии сосудистых сплетений проникают в каудальный рог бокового мозгового желудочка и третий желудочек, где участвуют в образовании сосудистого сплетения.

Каудальная соединительная артерия – *a. communicans caudalis* – дает начало каудальной мозговой артерии и каудальной артерии сосудистого сплетения. Правая ( $0,39 \pm 0,11$ ) и левая ( $0,37 \pm 0,08$ ) каудальные мозговые артерии (*a. cerebri caudalis dextra et sinistra*), отдавая на своем пути корковые и центральные ветви (*rr. corticales et centrales*), питают кровью задние отделы полушарий

и четверохолмие. Правая ( $0,55 \pm 0,08$ ) и левая ( $0,53 \pm 0,09$ ) каудальные артерии сосудистого сплетения – *a. choroidea caudales* – направляются в сосудистое сплетение боковых мозговых желудочков.

У козы зааненской породы в отличие от остальных животных (лошадь, собака, кошка, кролик, овца) от каудальной соединительной артерии отходят правая ( $0,43 \pm 0,13$ ) и левая ( $0,41 \pm 0,11$ ) рostrальные артерии мозжечка – *a. cerebelli rostralis dextra et sinistra*. Каждая из них берет начало справа и слева от места впадения основной мозговой артерии в артериальное кольцо.

Основная артерия мозга ( $0,71 \pm 0,12$ ) – *a. basilaris cerebri* – образуется путем слияния ветвей правой ( $1,58 \pm 0,11$ ) и левой ( $1,53 \pm 0,09$ ) затылочных артерий – *a. occipitalis dextra et sinistra* (в основном участвуют в кровоснабжении ромбовидного мозга). Каждая из затылочных артерий проникает в позвоночный канал через межпозвоночное отверстие

атланта и делится на две ветви. Эти ветви анастомозируют с ветвями противоположной стороны и образуют краниальную и каудальную ветви. Краниальная ветвь (*ramus cranialis*) направляется в сторону головного мозга и сливается с каудальной ветвью (*ramus caudalis*), образуя основную артерию мозга.

Основная артерия мозга впадает в каудальную часть артериального кольца. На своем пути около моста основная мозговая артерия отдает множественные парные артерии продолговатого мозга – *a. medullae oblongatae* – и мозгового моста – *a. pontis*. Позади мозгового моста от основной артерии мозга отходят правая ( $0,48 \pm 0,07$ ) и левая ( $0,45 \pm 0,13$ ) каудальные артерии мозжечка – *a. cerebelli caudalis dextra et sinistra*.

## Выводы

1. Синтопия сосудов головного мозга козы зааненской породы имеет выраженные особенности: артериальное кольцо основания мозга у козы зааненской породы впереди не замкнуто, в связи с чем у этих животных постоянны две роstralные мозговые артерии; роstralные артерии мозжечка берут

свое начало от каудальной соединительной артерии.

2. Основными источниками кровоснабжения головного мозга у козы зааненской породы служат внутренняя сонная артерия и основная артерия мозга. Коллатеральными путями артериальной васкуляризации являются позвоночная и глубокая шейные артерии.

3. В области основания черепа козы зааненской породы внутренняя сонная артерия образует *rete mirabile* (чудесную сосудистую сеть), исключая значительные перепады внутричерепного давления при резких движениях головы.

## Список литературы

1. Зеленецкий, Н. В. Практикум по ветеринарной анатомии / Н. В. Зеленецкий, А. А. Стекольников. – СПб. : Логос, 2006. – 160 с.
2. Зеленецкий, Н. В. Анатомия собаки и кошки / Н. В. Зеленецкий, Г. А. Хонин. – СПб. : Логос, 2004. – 344 с.
3. Зеленецкий, Н. В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура / Н. В. Зеленецкий. – Ред. 5-я. – СПб. : Лань, 2013.
4. Хрусталева, И. В. Анатомия домашних животных / И. В. Хрусталева, Н. В. Михайлов, Я. И. Шнейберг. – М. : Колос, 1994. – 704 с.



## Ветеринарная клиника

Журнал «Ветеринарная клиника» — ежемесячное научно-практическое издание, в котором освещаются вопросы ветеринарной медицины мелких домашних и экзотических животных.

На страницах журнала публикуются:

- ✓ интервью с ведущими ветеринарными специалистами (рубрика «*ВЕТ-персона*»);
- ✓ статьи, освещающие вопросы лечения и профилактики заболеваний мелких домашних животных (рубрики «*Терапия*», «*Онкология*», «*Хирургия*», «*Стоматология*»);
- ✓ информация о новейших препаратах (рубрика «*Фармакология*»);
- ✓ информация о современных методиках диагностики заболеваний (рубрика «*Диагностика*»).

Приглашаем к сотрудничеству авторов и рекламодателей.

По всем вопросам обращайтесь в редакцию по телефонам: (343) 214-76-30, 8-912-046-78-45.  
Адрес редакции: 620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а.  
E-mail: [vetklinika@uralbiovet.ru](mailto:vetklinika@uralbiovet.ru).

## Уверенность в знаниях!



УДК 619:602.3:611.018:636.7

Ключевые слова: мультипотентные стволовые клетки, костный мозг, моноклональное антитело, иммуноцитохимический анализ, ядерный белок, актин, виментин, E-кадгерин, N-кадгерин  
 Key words: multipotent stem cells, bone marrow, monoclonal antibody, immunocytochemical analysis, nuclear proteins, actin, vimentin, E-cadherin, N-cadherin

Мазуркевич А. И., Малюк Н. А., Безденежных Н. А., Харкевич Ю. А.,  
 Адаменко И. Н., Кудрявец Ю. И.

**ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ  
 СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА СОБАКИ  
 ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ IN VITRO НА РАННИХ ПАССАЖАХ  
 IMMUNOPHENOTYPIC PROFILE OF MULTIPOTENT STEM CELLS  
 OF THE BONE MARROW OF DOG DURING CULTIVATION IN VITRO  
 ON THE EARLY PASSAGES**

<sup>1</sup>Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины  
 Адрес: 03041, Украина, г. Киев, ул. Героев Оборона, 15

<sup>1</sup>*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine  
 Address: 03041, Ukraine, Kyiv, Heroyiv Oborony str., 15*

<sup>2</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины  
 Адрес: 03022, Украина, г. Киев, ул. Васильковская, 45

<sup>2</sup>*R. E. Kavetsky Institute of experimental pathology, oncology and radiobiology  
 of the National Academy of Sciences of Ukraine  
 Address: 03022, Ukraine, Kyiv, Vasilkovska str., 45*

Мазуркевич Анатолий Иосифович, д. в. н., проф.<sup>1</sup> / *Mazurkevych Anatoly I., Doctor of Veterinary Medicine, Professor<sup>1</sup>*

Малюк Николай Алексеевич, к. в. н., доцент<sup>1</sup> / *Maliuk Nikolay A., Ph.D. in Veterinary Science, Associate Professor<sup>1</sup>*

Безденежных Наталия Александровна, к. б. н., ст. научн. сотрудник<sup>2</sup>

*Bezdeniezhnykh Natalia A., Ph.D. in Biology Science, Senior Research Scientist<sup>2</sup>*

Харкевич Юрий Александрович, к. в. н., ассистент<sup>1</sup> / *Kharkevych Yuriy A., Ph.D. in Veterinary Science, Assistant<sup>1</sup>*

Адаменко Инна Николаевна, инженер I кат.<sup>2</sup> / *Adamenko Inna N., I category engineer<sup>2</sup>*

Кудрявец Юрий Иосифович, д. б. н., ст. научн. сотрудник<sup>2</sup>

*Kudriavets Yuriy I., Doctor of Biology Science st. научн. сотрудник<sup>2</sup>*

**Аннотация.** Проведенные иммуноцитохимические исследования подтверждают, что мультипотентные стволовые клетки костного мозга собаки представлены гетерогенной фракцией. Они экспрессируют маркеры мезенхимальных, мышечных, эпителиальных и нервных клеток, а также ядерные и плазматические белки, которые регулируют пролиферативные и антиапоптотические процессы в клетках.

**Summary.** Immunocytochemical studies confirm that multipotent stem cells of the bone marrow of dogs represent as a heterogeneous fraction. They express markers of mesenchymal, muscle, epithelial and nerve cells, as well as nuclear and plasma proteins that regulates the proliferative and antiapoptotic processes in cells.

### Введение

Очень важным направлением тканевой инженерии XXI века является клиническое использование стволовых клеток (СК) с лечебной целью. Важным условием для успешного клинического использования СК является решение вопросов, связанных с разработкой методов и способов для активной пролиферации этих клеток и дифференциации в соответствующий фенотип, что обеспечивает возможность полноценной заместительной терапии поврежденных тканей и органов. Явным преимуществом соматиче-

ских СК в регенеративной медицине является то, что их выделение и применение не несет этических и иммунологических проблем.

Эффективная терапия стволовыми клетками возможна при условии учета многих аспектов их взаимодействия с организмом реципиента, а именно: иммунной реакции организма животного на трансплантированные клетки, механизмов хоуминга, которые обеспечивают поступление СК в место повреждения, а также дифференциации имплантированных клеток под влиянием сигналов микроокружения, что зави-

сит от фенотипических свойств стволовых клеток.

Считают, что среди фибробластоподобных клеток костного мозга (ФБПК КМ) находится несколько разновидностей мезенхимальных стволовых клеток, которые отличаются по поверхностным маркерам. По данным Pittenger et al., эти клетки несут маркеры CD44, CD62L, CD90, CD120a, но не экспрессируют CD14, CD34, CD45, CD49a и рецептор EGF [8]. Иммунофенотип гомогенных ФБПК, который описывал Hung, отличается от клеток, описанных Pittenger по таким молекулам, как CD49d, CD62L, CD120a, CD90 и рецепторам к TGFβ и EGF [7]. В то же время ФБПК отличаются от фибробластов КМ, которые всегда остаются положительными на антиген CD34 и не несут маркер STRO-1.

В связи с неопределенностью относительно иммунофенотипа мультипотентных стволовых клеток, комитет Международного общества клеточной терапии (International Society for Cellular Therapy, ISCT) предложил для определения адгезивных к пластику клеток со свойствами мезенхимальных стволовых клеток, независимо от источника их выделения, использовать аббревиатуру «мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки», сохранив аббревиатуру МСК [5, 6]. При этом термин «мезенхимальные стволовые клетки» рекомендовано использовать только в тех экспериментальных исследованиях, в которых подтверждаются свойства стволовых клеток: 1) адгезия к пластику; 2) экспрессия специфических антигенов; 3) способность в стандартных условиях *in vitro* к трехлинейной дифференциации в остеобласты, адипоциты и хондробласты. В соответствии с этими критериями, МСК после экспансии должны быть положительными по CD105, CD73, CD90. Одновременно МСК не должны экспрессировать CD45, CD14, CD11b, CD79a и CD11.

Описанные критерии используют только для стандартизации МСК человека, хотя адгезивные свойства и трехлинейная дифференциация характерны также для МСК других видов млекопитающих. В то же время описанные иммунофенотипические свойства стволовых клеток человека не могут быть

использованы для идентификации стволовых клеток разных видов животных, даже стволовых клеток лабораторных мышей, на которых проводится большинство экспериментальных исследований, поскольку экспрессия поверхностных антигенов этих клеток изучена не достаточно, а протоколов исследований, которые касаются иммунофенотипического профиля МСК собак, кошек, кролей, лошадей и других видов животных в доступных литературных источниках не обнаружено.

Таким образом, изучение иммунофенотипического профиля мультипотентных стволовых клеток животных имеет как теоретическое, так и практическое значение. При этом изучение CD маркеров мультипотентных стволовых клеток костного мозга собак во время культивирования *in vitro* на ранних пассажах является своевременным и актуальным заданием.

Цель исследования – изучить экспрессию экстра-, а также интрацеллюлярных специфических белков мультипотентных стволовых клеток костного мозга собаки на ранних пассажах с помощью иммуноцитохимического анализа.

## Материал и методика исследования

Мультипотентные стволовые клетки (МСК) выделяли из костного мозга (КМ) собак. Выделенную клеточную массу культивировали в стандартной среде: DMEM – 80 %, сыворотка эмбрионов телят – 20 % («Sigma», США) с добавлением 10 мкл/см<sup>3</sup> среды антибиотика-антимикотика. Культивирование проводили в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при температуре 37 °С и 5 % концентрации CO<sub>2</sub>. При этом МСК оседали, прикреплялись ко дну чашек Петри и распластывались. Суспензионную культуру кроветворных клеток удаляли, после чего продолжали культивировать клетки с адгезивными свойствами. С целью получения суспензии клеток использовали 0,5 % раствор трипсина и 0,2 % ЕДТА [2]. Микроскопический анализ культуры проводили с помощью инвертированного микроскопа Axiovert 40 (Карл Цейс).

Для проведения иммуноцитохимического анализа исследуемые клетки выращивали

на покровных стеклах 48–72 часа (при условии 50–70 % монослоя). Фиксировали клетки в растворе метанола и ацетона в соотношении 1 : 1 в течение 2 часов при температуре -20 °С, после чего их инкубировали с 1 % раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA). Для выявления специфических маркеров наносили на фиксированные клетки МКАт (anti: PCNA (clone PC-10, NeoMarkers), Ki-67 (clone RB-9043-PO, Neomarkers), p53 (CloneDO-7, Dako), CD44 (clone 156-3C11, DiagnosticBioSystems), PanMuscleActin (clone 1a45C5, DiagnosticBioSystems), E-cadherin (cloneSPM 471, ThermoScientific), N-cadherin (clone CD325, ThermoScientific), виментин (V9, DiagnosticBioSystems), bcl-2 (clone 10/D5, ThermoScientific) на 30–60 минут (согласно инструкции производителя). После этого использовали систему визуализации PolyVue (ThermoScientific), конъюгированную с пероксидазой, выявляли активность фермента с использованием в качестве субстрата диаминобензидин (ThermoScientific). После проведения иммуноцитохимической реакции препараты промывали водой и докрашивали гематоксилином Майера (Sigma) (15–30 с), после чего их заключали в водной среде Faramount (Faramount, Aqueous Mounting Medium). Анализ результатов про-

водили по количеству «положительных» клеток с экспрессией (коричневый цвет) и оценивали с использованием классического метода H-Score:  $S = 1 \times A + 2 \times B + 3 \times C$ , где S – показатель «H-Score», значение которого находится в пределах от 0 (белок не экспрессируется) до 300 (сильная экспрессия в 100 % клеток); A – процент слабо «окрашенных» клеток; B – процент умеренно «окрашенных» клеток; C – процент сильно «окрашенных» клеток.

**Результаты исследований**

В таблице 1 приведены данные по иммунофенотипированию МСК КМ собаки на первом и втором пассажах.

С помощью иммуноцитохимического анализа нами установлено, что на первом и втором пассажах количество PCNA-положительных (proliferative cell nuclear antigen) клеток существенно не изменялось (табл. 1, рис. 1б), что свидетельствует об их высокой пролиферативной активности.

Стоит отметить, что на втором пассаже экспрессия еще одного белка, который характеризует пролиферативный потенциал клеток – Ki-67 повысилась на 13 % по отношению к экспрессии Ki-67 клетками первого пассажа (табл. 1, рис. 1в). Вероятно, уве-

**Таблица 1.**

**Иммунофенотипический профиль мультипотентных стволовых клеток костного мозга собаки на ранних пассажах (M±m, n=3)**

№ п/п	Исследуемый антиген	Пассаж клеток из костного мозга собаки <i>in vitro</i>	
		I пассаж	II пассаж
Показатели H-Score (баллы)			
Ядерные белки (связанные с пролиферацией и клеточным циклом)			
1	PCNA	185±10,3	180±9,8
2	Ki 67	88±9,3	101±4,8
3	p-53	17±2	242±6,8***
Белки ассоциированные с апоптозом			
4	Bcl-2	50±4,1	241±9,6***
Белки клеточной адгезии и цитоскелета			
5	E-кадгерин	124±11	163±9,7
6	N-кадгерин	46±7	240±11,6***
7	Виментин	225±5,8	221±9,6
8	Актин	175±8,7	170±5,8
9	CD44	101±14	230±8,7***

Примечание: \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01; \*\*\* – p < 0,001.

личение количества Ki-67-положительных клеток на втором пассаже в условиях культивирования *in vitro* свидетельствует об адаптации клеток к культуральной среде на протяжении второго пассажа и активизации их пролиферативной активности. Наши исследования согласовываются с исследованиями Coltera et al. [4].

Во время культивирования *in vitro* мультипотентных стволовых клеток особенно важно исследовать экспрессию белков-регуляторов клеточного цикла, в частности p53, функция которого заключается в распознавании и исправлении ошибок, которые возникают во время репликации ДНК. Во время существенных повреждений ДНК как и других внутриклеточных нарушений происходит переключение функции белка p53, вследствие чего он приобретает транскрипционную активность и меняет экспрессию генов-мишеней. В результате этого происходит остановка деления генетически измененных, аномальных клеток, их гибель и элиминация из организма. В обычных условиях белок p53 находится в латентной форме со слабой транскрипционной активностью, но в результате стрессов он переходит в стрессовую конформацию, становится более стабильным и приобретает новые функции. Помимо латентной и стрессовой форм белок p53 под действием некоторых цитокинов и морфогенов может временно приобретать свойства так называемой мутантной конформации, в результате чего происходит инактивация его ростингибирующей активности и потеря функции клеточного регулятора [1, 3]. В этой работе выявлено небольшое количество p53-положительных клеток на первом пассаже и значительное увеличение их числа на втором пассаже (табл. 1, рис. 2а). Полученные результаты относительно активации экспрессии белка p-53 мультипотентными СК собаки свидетельствуют об активном выходе этих клеток из дормантного состояния, их адаптации к условиям культивирования, интенсификации пролиферативных процессов и повышение устойчивости клеток к апоптогенным факторам.

Белок Bcl-2 (табл. 1, рис. 2б) принадлежит к большой группе генов, продукты ко-

торых имеют как антиапоптотические (Bcl-2, Bcl-XL), так и проапоптотические свойства (Bax, Bad, Bic). Он находится в составе митохондриальных мембран, эндоплазматическом ретикулуме, перинуклеарной мембране и даже в митотических хромосомах. Было установлено, что на втором пассаже наблюдается достоверное увеличение количества Bcl-2-положительных клеток (в 4,8 раза) сравнительно с числом положительных клеток на первом пассаже. Вероятно, увеличение уровня экспрессии этого белка также свидетельствует об активации пролиферативной активности мультипотентных СК КМ собаки на втором пассаже и активацию антиапоптотического действия Bcl-2.

Во время изучения мультипотентных стволовых клеток костного мозга собаки на ранних пассажах уделялось особое внимание исследованиям кадгеринов – протеинов, которые отвечают за Ca<sup>2+</sup>-зависимое межклеточное взаимодействие, особенно в процессе эмбриогенеза и дифференциации тканей, в частности E-кадгерину, который характерен для эпителиальных клеток взрослого организма и N-кадгерину, который содержится преимущественно на поверхности нервных и мышечных клеток. Количество E- и N-кадгерин-положительных клеток на втором пассаже увеличивалось, что свидетельствует об активации межклеточных взаимодействий и стабильной экспрессии белков, которые характерны для эпителиальных, нервных и мышечных клеток взрослого организма, что подтверждает гетерогенность некоммитированных мультипотентных СК КМ собаки на ранних пассажах (табл. 1, рис. 3а, 3б).

При исследовании мультипотентных СК КМ собаки мы также акцентировали внимание на экспрессию виментина – белка промежуточных филаментов цитоскелета, который является характерным маркером мезенхимальных клеток. В частности, нами была установлена стабильно высокая экспрессия клетками этого белка на ранних пассажах, что является подтверждением доминирования в культуре клеток именно мезенхимального происхождения (табл. 1, рис. 3в).

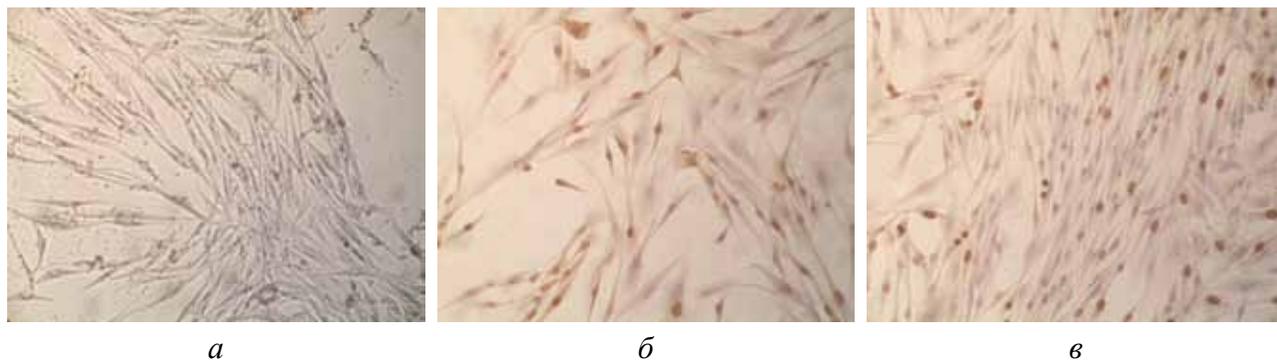


Рис. 1. Иммунофенотипическая характеристика специфических белков мультипотентных стволовых клеток собаки (II пассаж): а – контроль; б – PCNA- положительные клетки; в – Ki67-положительные клетки,  $\times 200$ .

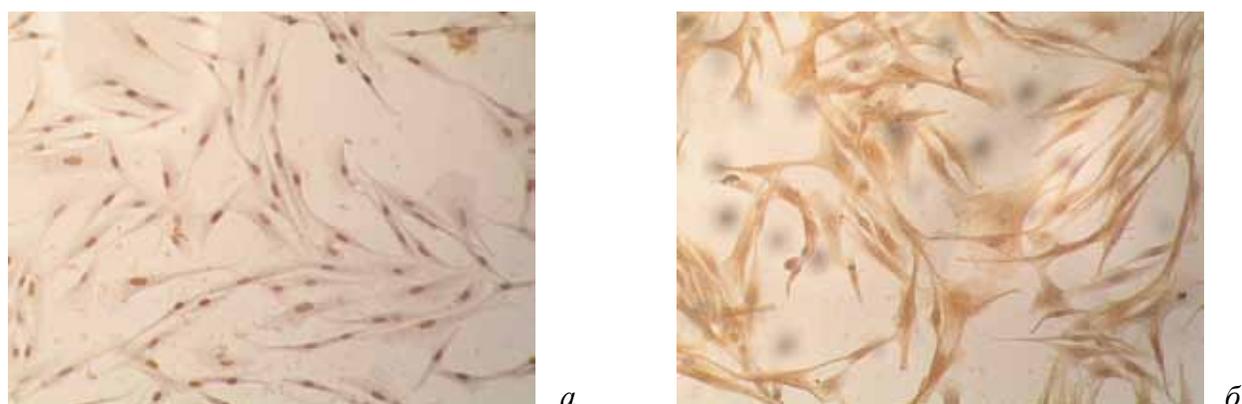


Рис. 2. Иммунофенотипическая характеристика специфических белков мультипотентных стволовых клеток собаки (II пассаж): а – p53-положительные клетки,  $\times 200$ ; б – Vcl-2-положительные клетки,  $\times 400$ .

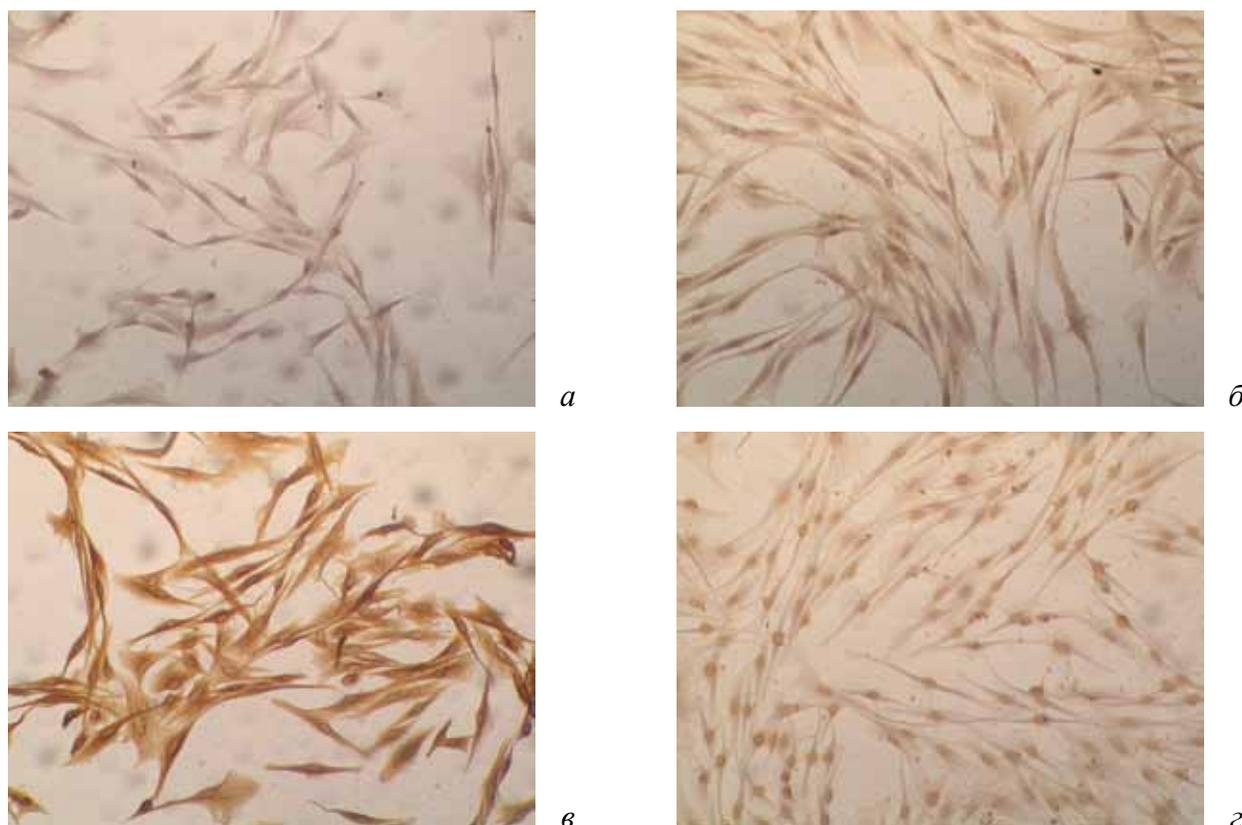


Рис. 3. Иммунофенотипическая характеристика специфических белков мультипотентных стволовых клеток собаки (II пассаж): а – E-кадгерин-положительные клетки,  $\times 200$ ; б – N-кадгерин-положительные клетки,  $\times 200$ ; в – виментин-положительные клетки,  $\times 400$ ; г – актин-положительные клетки,  $\times 200$ .

При исследовании актин-положительных клеток нами было установлено, что уровень экспрессии этого белка имеет стабильную среднюю экспрессию как на первом, так и на втором пассажах, что также свидетельствует об их мезенхимальной природе. При этом наблюдался интересный факт клональной специфичности: высокая интенсивность экспрессии актина в некоторых клеточных популяциях (табл. 1, рис. 3г).

Как известно, белок системы клеточной адгезии – CD44 – является главным рецептором клеточных мембран для гиалуроната и принимает активное участие в образовании физического контакта между клетками стромы и ранними предшественниками В-клеток, а также в других формах межклеточной адгезии и процессах клеточной миграции. В наших экспериментах выявлено умеренное количество CD44-положительных клеток на первом пассаже и увеличение процента положительных клеток с высоким уровнем экспрессии на втором пассаже (табл. 1).

## Выводы

1. Мультипотентные стволовые клетки костного мозга собаки, культивируемые в стандартной питательной среде, являются гетерогенными и экспрессируют маркеры мезенхимальных, мышечных, эпителиальных и нервных клеток.

2. Мультипотентные стволовые клетки собаки на втором пассаже активно экспрес-

сируют ядерные и плазматические белки, которые являются регуляторами пролиферативных и антиапоптотических процессов.

## Список литературы

1. Заридзе, Д. Г. Канцерогенез / Д. Г. Заридзе. – М. : Медицина, 2004. – С. 125–156.
2. Мазуркевич, А. И. Використання мезенхімальних стовбурових клітин для корекції репаративних процесів в організмі тварин-реципієнтів. Методичні рекомендації / А. И. Мазуркевич, В. Б. Данілов, М. О. Малюк та ін. – К., 2012. – С. 42.
3. Чумаков, П. М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме / П. М. Чумаков // Успехи биологической химии. – 2007, т. 47. – С. 3–52.
4. Coltera, D. C. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow / D. C. Coltera, R. Class, C. M. DiGirolamo et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000, Vol. 97. – P. 3213–3218.
5. Dominici, M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller et al. // Cytoterapy. – 2006, Vol. 8, 4. – P. 315–317.
6. Eminli, S. Reprogramming of neural progenitor cells into iPS cells in the absence of exogenous Sox2 expression / S. Eminli, J. S. Utikal, K. Arnold et al. // Stem cells. – 2008, Vol. 26. – P. 2467–2474.
7. Hung, S. C. Isolation and characterization of size-sieved stem cells from human bone marrow / S. C. Hung, N. J. Chen, S. L. Hsieh et al. // Stem Cells. – 2002, Vol. 20. – P. 522–530.
8. Pittenger, M. F. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells / M. F. Pittenger, A. M. Maskay, S. C. Beck et al. // Science. – 1999, Vol. 284. – P.143–147.



ЮЖНО-РОССИЙСКИЙ  
МЕЖДУНАРОДНЫЙ  
ВЕТЕРИНАРНЫЙ  
КОНГРЕСС

Контактная информация:  
НОУ «Институт ветеринарной медицины»  
ул. Фурмановская, 106  
г. Ростов-на-Дону, 344068  
тел.: +7 (928) 768-36-42  
e-mail: ermakov@vetcongress.org

25-26 сентября  
2014 года

Ростов-на-Дону  
Конгресс-центр «Вертол-Экспо»

www.vetcongress.org

УДК 597.442-115 (282,247.41+262,81)

Ключевые слова: коллекция, генетические ресурсы, осетровые, исследование проб, электронный реестр, структурированная информация

Key words: collection, genetic resources, sturgeon, the study sample, the electronic registry, structuring information

Базелюк Н. Н., Мухамедова Р. М., Козлова Н. В., Файзулина Д. Р.

**КОЛЛЕКЦИЯ ЭТАЛОННЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ОСЕТРОВЫХ  
(ACIPENSERIDAE) ВОЛЖСКО-КАСПИЙСКОГО БАССЕЙНА  
REFERENCE COLLECTION OF GENETIC MATERIAL OF STURGEON  
(ACIPENSERIDAE) OF THE VOLGA-CASPIAN BASIN**

<sup>1</sup>ФГУП «Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства» («КаспНИРХ»),  
лаборатория физиологии и генетики рыб

Адрес: 414056, Россия, г. Астрахань, ул. Савушкина, 1

<sup>1</sup>*Caspian Research Institute of Fisheries (CaspNIRKh), Laboratory of Fish Physiology and Genetics*

Address: 414056, Russia, Astrakhan, Savushkin str., 1

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет»

Адрес: 414056, Россия, г. Астрахань, ул. Татищева, 16

<sup>2</sup>*Astrakhan State Technical University. Address: 414056, Russia, Astrakhan, Tatischev str., 16*

Базелюк Надежда Николаевна, к. философ. н., зав. лабораторией<sup>1</sup>. E-mail: bazeluknn@kaspnirh.ru

*Bazeljuk Nadezhda N., Ph.D. in Philosophical Science, Chief of the Laboratory<sup>1</sup>. E-mail: bazeluknn@kaspnirh.ru*

Мухамедова Руфия Мутыгулаевна, мл. научн. сотрудник<sup>1</sup> / *Mukhamedova Rufiya M., Junior Research Scientist<sup>1</sup>*

Козлова Наталья Викторовна, к. б. н., научн. сотрудник<sup>1</sup>. E-mail: natali19\_12@mail.ru

*Kozlova Natalya V. Ph.D. in Biology Science, Research Scientist<sup>1</sup>. E-mail: natali19\_12@mail.ru.*

Файзулина Дина Рубиновна, аспирант каф. аквакультуры и водных биоресурсов<sup>2</sup>,  
научн. сотрудник<sup>1</sup>. E-mail: d\_faizulina@mail.ru.

*Faizulina Dina R., Postgraduate of the Dept. of Aquaculture and Aquatic Resources<sup>2</sup>,  
Research Scientist<sup>1</sup>. E-mail: d\_faizulina@mail.ru*

**Аннотация.** Одним из национальных достояний РФ являются российские биологические коллекции. Цель работы: формирование и сохранение исследовательской коллекции эталонных генетических материалов осетровых. В период 2000–2012 гг. сотрудники лаборатории физиологии и генетики рыб ФГУП «КаспНИРХ» провели мероприятия, направленные на поиск и сбор генетических материалов осетровых рыб Волжско-Каспийского бассейна в местах их естественного и искусственного обитания, обеспечили условия создания, хранения и развития коллекции эталонных генетических материалов осетровых рыб Волжско-Каспийского бассейна. Компонентами исследовательской коллекции ФГУП «КаспНИРХ» являются фрагменты плавников, гонад, печени, мышц и половые продукты осетровых. Образцы ткани, содержащие функциональные единицы наследственности, хранятся в научно-экспериментальном комплексе по молекулярно-генетическим исследованиям в соответствии с международными стандартами содержания этих ресурсов. Образцы коллекции 2 категории используются для проведения генетических анализов, составления молекулярно-генетических паспортов, мониторинга состояния генетического разнообразия осетровых.

**Summary.** One of the national treasures of the Russian Federation is the Russian biological collections. Work objective: formation and maintenance of research reference collections of sturgeon genetic materials. In the period of 2000–2012 years employees of the Laboratory of Physiology and Genetics of fish "CaspNIRKh" conducted activities directed for searching and collection of genetic material of sturgeon of the Volga-Caspian basin in their natural and artificial habitats, provided the conditions for the creation, storage and collection of genetic reference materials of sturgeon of the Volga-Caspian basin. The components of the research collection "CaspNIRKh" are fragments of fins, gonads, liver, muscles and gonads of sturgeon. The tissue samples containing functional units of heredity are stored in the scientific and experimental complex for molecular genetic studies in accordance with international standards, the content of these resources. Samples collection 2 categories are used for genetic analyzes, molecular genetic passports, monitoring the genetic diversity of sturgeon.

### Введение

По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН, Россия занимает четвертое место среди государственных коллекционеров, обладающих крупнейшими

генетическими банками растений и микроорганизмов. Биологические коллекции выполняют высокую гуманитарную задачу сохранения биологического разнообразия на планете.

Российские биологические коллекции представлены уникальными собраниями растений (более 100 ботанических садов, 50 гербарных коллекций), клеточных материалов (9 коллекций клеток), микроорганизмов (100 коллекций культур микроорганизмов) и т. д., которые являются национальным достоянием и имеют огромное значение для фундаментальных научных исследований и научно-практической деятельности. Крупнейшими биоколлекциями России считаются Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ, хранится в ИБФМ РАН, Пущино), Вавиловская коллекция генетических ресурсов растений, имеющая мировое значение (ВНИИР РАСХН, хранится в Санкт-Петербурге и Краснодаре). Во ВНИИ животноводства Россельхозакадемии (ВИЖ) сформирована и поддерживается коллекция семени редких уникальных и исчезающих видов животных, во ВНИРО создана и хранится российская национальная коллекция эталонных генетических материалов рыб и т. д.

В 2011 г. председатель комитета Государственной Думы по науке и наукоемким технологиям, академик Валерий Черешнев провел круглый стол «О совершенствовании законодательного обеспечения сохранения биологических коллекций для развития биотехнологической отрасли Российской Федерации». В итоговом документе круглого стола за подписью В. Черешнева указано, что национальные биоресурсные центры (БРЦ) представляют собой важнейший элемент инфраструктуры, обеспечивающий развитие биологии и биотехнологии. БРЦ – это организации, предоставляющие услуги по хранению живых клеток, геномов и биоинформации, имеющей отношение к наследственности, функционированию биологических систем и различным аспектам практического использования биоматериалов [2].

В 2012 г. председателем Правительства РФ В. В. Путиным утверждена «Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 г.», в которой предусмотрено создание специальной инфраструктуры, включающей исследовательские коллекции для обеспечения цен-

трализации, стандартизации и доступности генетических ресурсов биотехнологического назначения. Поддержка и реализация Программы будет осуществляться по следующим направлениям: проведение инвентаризации действующих биологических коллекций; разработка комплекса мер по созданию сети биологических коллекций РФ; разработка и реализация мер государственной поддержки существующих биологических коллекций; гармонизации российского и международного правового регулирования деятельности по обороту генетических ресурсов и биологических коллекций [1].

## Основная часть

Существуют коллекции трех типов: эталонные, специализированные и исследовательские. Коллекция ФГУП «КаспНИРХ» является исследовательской, деятельность которой направлена на изучение природных генетических ресурсов, индивидуальных особенностей и полиморфизма осетровых.

В ФГУП «КаспНИРХ» создана и хранится коллекция эталонных генетических материалов осетровых рыб Волжско-Каспийского бассейна. В 2000–2012 гг. сотрудниками лаборатории физиологии и генетики рыб проведены мероприятия, направленные на поиск и сбор генетических материалов осетровых Волжско-Каспийского бассейна в местах их естественного и искусственного обитания, обеспечены условия развития коллекции генетических ресурсов и безопасного гарантированного долгосрочного хранения образцов.

Основными принципами формирования, регистрации, сохранения, изучения и рационального использования материалов коллекции генетических материалов являются: обеспечение сохранения, изучения и комплексной оценки образцов коллекции генетических ресурсов осетровых; обеспечение заинтересованным лицам доступа к образцам коллекции.

Компонентами коллекции эталонных генетических материалов осетровых (единицами хранения, изучения и обмена) являются фрагменты плавников, гонад, печени осетровых и половые продукты. Образцы тка-

ни, содержащие функциональные единицы наследственности, хранятся в научно-экспериментальном комплексе по молекулярно-генетическим исследованиям в морозильной камере, поддерживающей температуру  $-50^{\circ}\text{C}$  и предназначенной для хранения образцов в соответствии с международными стандартами содержания этих ресурсов.

Коллекция эталонных генетических материалов осетровых, в соответствии с их целевым назначением, охватом таксономического и генетического разнообразия, на основании паспортных, описательных и оценочных данных образцов подразделяется на две категории. Первая категория – коллекция оригинальных образцов генетических ресурсов осетровых, находящихся на долгосрочном безопасном хранении, являющаяся стратегической основой для устойчивого развития аквакультуры, селекции, биотехнологии и предназначенная для решения задач, обеспечивающих экономическую, продовольственную и экологическую безопасность Российской Федерации.

Вторая категория – коллекция дубликатов оригинальных образцов, предназначенная для изучения и использования в научных, селекционных и образовательных программах.

В коллекции первой категории сосредоточено 3299 проб, сбор которых начат в 2000 г. (табл. 1).

В 2011 г. коллекция пополнилась 87 образцами плавников русского и персидского

осетров, севрюги, выловленных в Северном и Среднем Каспии.

В 2012 г. коллекцию эталонных генетических материалов осетровых рыб Волжско-Каспийского бассейна пополнили 265 проб. Из них 173 фрагмента плавников русского и персидского осетров, севрюги, белуги, стерляди, выловленных в Северном и Среднем Каспии и в р. Волге, 80 проб фрагментов плавников и 12 проб икры от производителей русского осетра и белуги, которые содержатся в искусственных условиях.

Проблемно-ориентированные и прикладные исследования направлены на идентификацию и исследование селекционно-значимых полиморфизмов, ассоциированных с количественными и качественными показателями продуктивности, использование методов геномной паспортизации, позволяющих определять на геномном уровне племенную ценность животных, на разработку новых биотехнологических подходов к селекции и выращиванию осетровых, основанных на методах ДНК-технологии и ПЦР-анализа.

Перспективные поисковые исследования проб направлены на идентификацию генов, обуславливающих хозяйственно-ценные признаки осетровых и устойчивость к стрессовым факторам.

Для использования проб коллекционного материала все данные должны быть занесены в электронный реестр, разработанный

**Таблица 1.**  
**Количество образцов ткани осетровых рыб в коллекции 2000–2012 гг.**

Год	Итого	Образцы (пробы)			
		Фрагменты плавников	Икра	Гонады	Печень
2000	70	32	8	30	
2001	1574	797	74	514	189
2002	741	323	27	270	121
2004	28				28
2005	401	401			
2006	59	29	15	15	
2009	74	74			
2011	87	87			
2012	265	253	12		
Итого	3299	1996	136	829	338

ный сотрудниками лаборатории физиологии и генетики рыб ФГУП «КаспНИРХ». Таблица, сформированная в программе Microsoft Excel, содержит структурированные сведения об индивидуальных особенностях осетровых Волжско-Каспийского бассейна. Количество разделов и подразделов реестра зависит от количества видов семейств осетровых, пробы которых поступили в коллекцию. Каждый лист реестра формируется в зависимости от поступления проб, информации, полученной в ходе экспедиций, и результатов биологического, ихтиологического, биохимического, гистологического, генетического и трофологического анализов. В 2011 г. было сформировано 2 раздела, содержащих данные об осетре и севрюге. В 2012 г. реестр дополнен разделами, в которых содержатся сведения о белуге и стерляди.

Вначале формируются первоначальные данные реестра относительно морфологии осетровых рыб и экологических факторах среды обитания. Затем, в процессе проведения анализов, реестр дополняется новыми сведениями. Структурированный электронный реестр имеет неограниченный объем и может дополняться новой информацией. Сутью реестра являются структурированные данные об особи, выловленной в море, реке или выращенной в искусственных условиях на рыбноводном заводе.

Данные разделов включают порядковый номер, видовое название и митотип, данные о месте сбора (квадрат, район моря, глубину, прозрачность, соленость, количество кислорода в воде и температуру воды в момент вылова особи), дату сбора и фиксации, вид ткани, пол, возраст, массу, длину особи, местонахождение пробы, метод генетического анализа, данные генетического паспорта, результаты биологического, ихтиологического, биохимического, генетического, гистологического, трофологического анализов, фамилию сборщика проб и название судна или рыбноводного завода.

Структурированная информация предоставляется для прогноза запасов исследуемых видов рыб, анализа соотношения и состояния популяций осетровых. Полные

данные об исследуемой особи имеются только в реестре. С помощью данных реестра можно установить взаимосвязь между процессами, протекающими в организме рыбы, увидеть взаимозависимость между организмом и компонентами экологических факторов местообитания. Запись и считывание информации в реестр (из реестра) происходит постоянно. Структурированную информацию можно использовать для мониторинга генетического разнообразия естественных популяций каспийских осетровых и предотвращения снижения генетического разнообразия при искусственном воспроизводстве. Структурированное хранение информации имеет свои преимущества.

## Заключение

«Коллекция эталонных генетических материалов осетровых рыб Волжско-Каспийского бассейна», состоящая из систематизированных и документированных образцов тканей осетровых рыб, постоянно пополняется, сохраняется и находит практическое применение. Образцы коллекции второй категории используют для проведения генетического анализа, секвенирования геномов осетровых рыб, мониторинга состояния и оценки генетического разнообразия осетровых, составления молекулярно-генетических паспортов. По структурированной информации, занесенной в реестр коллекции, можно проследить распределение осетров в летний и осенний периоды в российском секторе Северного Каспия, влияние экологических факторов среды на осетровых, составить индивидуальную характеристику каждой особи и популяции в целом.

## Список литературы

1. Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 г. [Электронный ресурс] : утв. Правительством РФ от 24.04.2012 г. № 1853П-П8. – <http://www.garant.ru>.
2. О совершенствовании законодательного обеспечения сохранения биологических коллекций для развития биотехнологической отрасли Российской Федерации. Круглый стол [Электронный ресурс] : Государственная Дума РФ, 2011. – <http://www.biorosinfo.ru>.

УДК 619:616.98:578.834.11:636.52\58

Ключевые слова: вирус инфекционного бронхита кур, антигенное родство, иммуноферментный анализ  
 Key words: infectious bronchitis virus, antigenic affinity, enzyme-linked immune sorbent assay

Абдуллоев Х. С., Фролов С. В., Дандал А. Ш., Кулаков В. Ю.

**СРАВНЕНИЕ ГОМО- И ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ РЕАКЦИЙ ИММУННЫХ  
 СЫВОРОТОК, ПОЛУЧЕННЫХ НА ШТАММЫ «Н-120», «D-274» И «4/91»  
 ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР**

*COMPARISON OF HOMO- AND HETEROLOGOUS REACTIONS OF ANTISERA PREPARED  
 AGAINST “D274”, “4/91” AND “H-120” STRAINS OF INFECTIOUS BRONCHITIS VIRUS*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»

Адрес: 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

*<sup>1</sup>Peoples' Friendship University of Russia**Address: 117198, Russia, Moscow, Miklukho-Maklaya str., 6*<sup>2</sup>ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», лаборатория профилактики болезней птиц

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

*<sup>2</sup>Federal Centre for Animal Health, Laboratory for Avian Diseases**Address: 600901, Russia, Vladimir, Yurevets, Laboratory for Epidemiology and Monitoring of Avian Diseases*Абдуллоев Хуршед Сагторвич, аспирант<sup>1</sup> / *Abdulloev Hurshed S., Postgraduate<sup>1</sup>*Фролов Сергей Владимирович, к. в. н, зав. лабораторией<sup>2</sup>*Frolov Sergey V., Ph.D. in Veterinary Science, Laboratory Chief<sup>2</sup>*Дандал Али Шебли, аспирант<sup>1</sup> / *Dandal Ali Sh., Postgraduate<sup>1</sup>*Кулаков Владимир Юрьевич, к. в. н, вед. научн. сотрудник<sup>2</sup>*Kulakov Vladimir Yu., Ph.D. in Veterinary Science, Leading Research Scientist<sup>2</sup>*

**Аннотация.** В непрямом твердофазном варианте ИФА показано, что для дифференциации гомо- и гетерологичных реакций может быть использован показатель контраста вида  $C = (Y_{het} - Y_0)/(Y_{hom} - Y_0)$ , где  $C$  – величина контраста,  $Y_{hom}$ ,  $Y_{het}$  и  $Y_0$  – оценки оптической плотности в гомологичной, гетерологичной системах и отрицательного контроля, соответственно, для данного разведения тестируемых сывороток. Установлены величины одно-стороннего антигенного родства штаммов вируса инфекционного бронхита кур «D274» и «4/91» по отношению к штамму «H-120», которые в размерности долей и с указанием границ диапазона ошибки измерений составили 0,380 [0,339 ÷ 0,426] и 0,221 [0,200 ÷ 0,245], соответственно.

**Summary.** Indirect ELISA showed that the contrast of the form  $C = (Y_{het} - Y_0) / (Y_{hom} - Y_0)$  can be used for differentiation of homo- and heterologous reactions.  $C$  is the value of contrast,  $Y_{hom}$ ,  $Y_{het}$  and  $Y_0$  are evaluations of optical density of homologous, heterologous sera and negative control, respectively, for each dilution of test sera. We determined the value of unilateral antigenic relationship of strains of infectious bronchitis virus “D274” and “4/91” toward the strain “H-120”, which in dimension of shares specifying the boundaries of the range of measurement error amounted to 0,380 [0,339 ÷ 0,426] and 0,221 [0,200 ÷ 0,245], respectively.

**Введение**

Инфекционный бронхит кур (ИБК) – высококонтагиозная болезнь вирусной этиологии, клинически проявляющаяся в виде дисфункций дыхательной системы, поражений органов мочевыделительной и репродуктивной систем. В настоящее время ИБК является одной из наиболее экономически значимых болезней в промышленном птицеводстве многих стран мира, в том числе и Российской Федерации [1, 6].

Возбудитель ИБК – гаммакоронавирус, имеет выраженную тенденцию к антигенной изменчивости и появлению новых се-

ротипов [5]. В настоящее время для классификации штаммов (серотипов) вируса ИБК не существует единой согласованной системы. Тем не менее для изучения антигенных и иммунологических свойств широко применяются функциональные тесты (РН, ИФА, РТГА) [11].

Основным способом борьбы с данным заболеванием является специфическая профилактика, однако антигенное разнообразие циркулирующих эндемичных штаммов ИБК может существенно снижать эффективность проводимой вакцинации [10, 12].

В связи вышесказанным представляется актуальным исследование антигенных свойств различных штаммов ИБК и количественная оценка их антигенного родства.

Целью настоящей работы являлось сравнение гомо- и гетерологичных реакций иммунных сывороток, полученных на штаммы «Н-120», «D-274» и «4/91» вируса ИБК в непрямом твердофазном варианте ИФА.

## Материалы и методы

**Штаммы вируса ИБК.** Штаммы «Н-120», «D-274» и «4/91» вируса ИБК в составе экстраэмбриональной жидкости, полученные в результате расплодов на СПФ-эмбрионах кур.

**Антигены штаммов вируса ИБК.** Инфекционную активность изучаемых вирусных материалов скорректировали к наименьшему показателю ( $6,8 \text{ IgЭИД}_{50}/\text{см}^3$ ). Далее проводили инактивацию вируса. С этой целью в образцы вирусосодержащей экстраэмбриональной жидкости добавляли аминоэтилэтиленимин (0,05 % по объему), смесь выдерживали 24 часа при температуре 25 °С. Таким образом, соответственно исследуемым штаммам, получили вирусные антигены:  $\text{AG}_{\text{H120}}$ ;  $\text{AG}_{\text{D274}}$  и  $\text{AG}_{\text{4/91}}$ .

**Гипериммунные сыворотки морских свинок.** Образцы штаммовых антигенов смешивали с адьювантом - гелем гидрооксида алюминия в равных объемах. Полученные смеси вводили морским свинкам весом 350–400 г (по 6 голов на каждый образец) внутримышечно в бедро, в объеме  $1,5 \text{ см}^3$ . Повторную иммунизацию проводили через 14 суток. Далее с интервалом 7 суток выполняли еще 2 инъекции.

Через 40 суток после начала эксперимента провели забор крови. За 15 минут до операции выполняли процедуру анестезии и миорелаксации животных. Далее производили пункцию сердца и отбор образцов крови. После этого животных подвергали эвтаназии парами хлороформа.

Образцы крови декантировали от фибрина и форменных элементов, и полученные сыворотки объединяли соответственно исследуемым антигенам. Таким образом получали меланжированные штаммоспеци-

фичные гипериммунные сыворотки  $S_{\text{H120}}$ ,  $S_{\text{D274}}$  и  $S_{\text{4/91}}$ .

## Иммуно-ферментный анализ (ИФА).

Применяли метод непрямого твердофазного ИФА с постоянной дозой иммобилизованного антигена. С этой целью использовали диагностические наборы компании Synbiotics (США) для определения антител к вирусу ИБК в сыворотках крови кур.

Реакцию выполняли в соответствии с инструкцией [8] до этапа индикации иммунных комплексов, где пероксидазный конъюгат для выявления куриных антител заменяли на аналогичный реагент, предназначенный для выявления антител морских свинок. В качестве отрицательного контроля использовали меланжированный образец сыворотки крови морских свинок, полученный до их иммунизации. Оптическую плотность продуктов реакции определяли на спектрофотометрической «STL» (Австрия) при длине волны 405 нм. Порядок обработки первичных данных описан в тексте.

## Результаты

Испытывали двукратные разведения (D) сывороток в диапазоне от 1 : 100 до 1 : 12800. По завершении реакции в каждом разведении измеряли оптическую плотность хромогенного субстрата (Y). Испытания всех образцов сывороток проводили параллельно.

Было проведено три повторных эксперимента. Полученные результаты представлены в виде диаграмм на рисунке.

Приведенные диаграммы демонстрируют монотонно убывающие по оси IgD значения Y, установленные для всех испытанных образцов сывороток. В отрицательном контроле тренд указанных величин не выражен. В диапазоне разведений от  $\text{IgD} = 2$  (1 : 100) до  $\text{IgD} = 2,204$  (1 : 1600) оптическая плотность (ОП) образца  $S_{\text{H120}}$  была заметно выше, чем у образцов  $S_{\text{D274}}$  и  $S_{\text{4/91}}$ , но при этом оптические показатели двух последних образцов формально превосходили отрицательный контроль.

В соответствии с тем что в использованных диагностических наборах для выявления антител к вирусу ИБК на планшетах иммобилизован антиген штамма Н-120 [6],

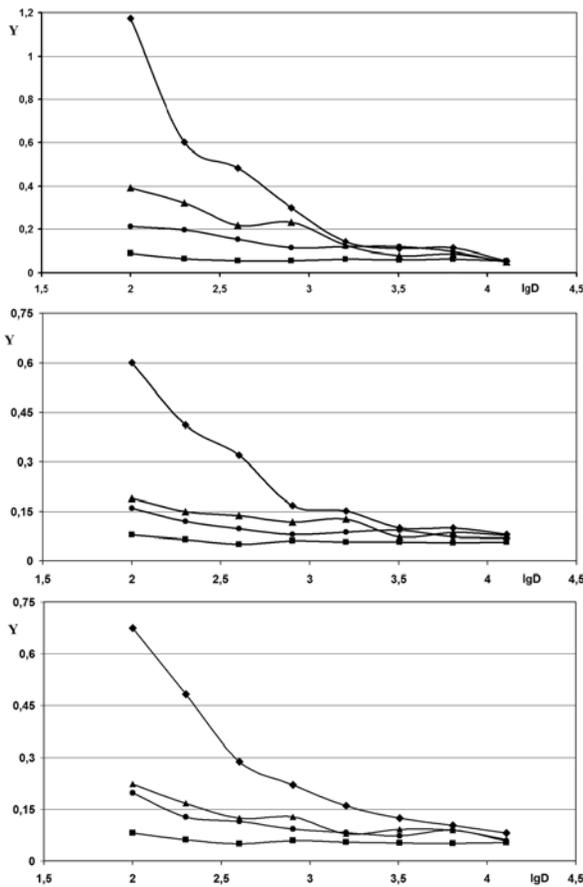


Рис. Результаты титрования сывороток морских свинок, иммунизированных штаммами «Н-120», «D-274» и «4/91» вируса ИБК (три повторных опыта). Представлены оценки оптической плотности (Y) исследуемых образцов сывороток  $S_{H120}$  (◆),  $S_{D274}$  (▲) и  $S_{4/91}$  (●) и отрицательного контроля  $S_0$  (□), установленные соответственно величинам их разведений (D).

реакцию с сывороткой  $S_{H120}$  считали гомологичной (hom), остальные реакции рассматривали как гетерологичные (het).

В каждом опыте по всему испытанному диапазону разведений вычисляли среднее значение ОП отрицательного контроля (“ $Y_0$ ”). Далее по данным hom-системы определяли границы диапазона разведений ( $D_{min} \div D_{max}$ ), в которых проводили анализ полученных результатов (рабочий диапазон), где:  $D_{min}$  – величина наименьшего испытанного разведения,  $D_{max}$  – величина наибольшего разведения, в котором оценка соответствующего оптического показателя превосходит или равна удвоенной средней оценке ОП отрицательного контроля (т. е.  $Y \geq 2 \cdot Y_0$ ).

В границах рабочего диапазона в каждом разведении тестируемых сывороток проводили сравнение оптических показателей

hom- и het-систем, где оценкой различия (показателем контраста) между значениями  $Y_{hom}$  и  $Y_{het}$ , с учетом оптики отрицательного контроля ( $Y_0$ ), установленной в данном разведении, считали величину:

$$C = (Y_{het} - Y_0) / (Y_{hom} - Y_0).$$

Полученные в рабочем диапазоне разведений оценки ОП  $Y_{hom}$ ,  $Y_{het}$  и  $Y_0$ , а также выборки соответствующих показателей гетерологичного контраста, представлены в таблице 1 (в целях ограничения влияния возможных резко выпадающих значений C для вычислительных процедур использовали величины  $\lg C$ ).

Был проведен анализ распределений показателей  $\lg C$  в обеих выборках на предмет установления степени их асимметрии и эксцесса (островершинности), что являлось обоснованием использования средних значений и применения стандартных методов обработки первичных данных [3]. Результаты анализа приведены в таблице 2.

Данные, представленные в таблице 2, позволили сделать ряд заключений. По критерию асимметричности ( $A/m_A < 3$ ) для выборок  $\lg C_1$  и  $\lg C_2$ , фактические отношения составили  $0,275 / 0,528 = 0,521$  и  $1,058 / 0,528 = 2,003$ , соответственно. По критерию эксцесса ( $E/m_E < 3$ ) анализируемые выборки  $\lg C_1$  и  $\lg C_2$  имели оценки  $1,483 / 0,882 = 1,681$  и  $1,510 / 0,882 = 1,712$ . В обоих случаях критериальные неравенства выполнялись. На этом основании обе выборки были отнесены к нормально распределенным, что, в свою очередь, разрешало использовать стандартные методы параметрической статистики.

Были определены средние оценки гетерологичных контрастов и их стандартные отклонения: “ $\lg C_1 \pm G = (-0,420) \pm 0,196$  и “ $\lg C_2 \pm G = (-0,655) \pm 0,177$ . Статистические коэффициенты  $t = “\lg C / (G / \sqrt{n})$  указанных средних величин, учитывающие ошибку сделанных измерений, по критерию Стьюдента [3] демонстрировали высокую степень их значимости ( $p \leq 0,001$ ). При этом и сами показатели “ $\lg C_1$  и “ $\lg C_2$  между собой достоверно различались.

### Обсуждение

В качестве доноров иммунных сывороток в работе были использованы морские свинки,

поскольку данные животные не восприимчивы к вирусу ИБК. Это обстоятельство рассматривали как дополнительную гарантию получения более объективных данных в аспекте антигенного воздействия исследуемых вирусных штаммов. При этом концентрация антигенов (по крайней мере по титру инфекционного вируса) была приближенно равной.

Использование непрямого твердофазного варианта ИФА для дифференциации гомо- и гетерологичных реакций иммунных сывороток предполагало определенные особенности интерпретации получаемых результатов. Если в данном случае опираться на обычные величины соответствующих титров [2] тестируемых сывороток (т. е. величины наиболь-

ших разведений, при которых оптические показатели превосходят или равны удвоенному среднему значению оптики отрицательного контроля) и проводить их сравнение, то такой подход был бы не корректным (см. диаграммы первичных оценок оптических показателей в гомо- и гетерологичных реакциях, представленные на рисунке).

Очевидно, что использование оптических показателей для сравнения гомо- и гетерологичных реакций [7] представляется обоснованным. Однако сопоставление указанных оценок, установленных только для одного разведения тестируемых образцов сыворотки, может снижать надежность вывода о степени их различимости.

**Таблица 1.**

**Оценки оптической плотности (Y) в hom- и het-системах, а также показатели их контраста (C), установленные соответственно испытанным разведениям (D)\* исследуемых образцов сывороток ( $S_{H-120}$ ;  $S_{D274}$ ;  $S_{4/91}$ )**

lgD	$Y_0$	$Y_{hom}(S_{H-120})$	$Y_{het-1}(S_{D274})$	$Y_{het-2}(S_{4/91})$	$lgC_1(het-1)$	$lgC_2(het-2)$
2,000	0,089	1,173	0,392	0,213	-0,554	-0,942
2,301	0,065	0,601	0,322	0,197	-0,319	-0,609
2,602	0,057	0,484	0,219	0,153	-0,421	-0,648
2,903	0,056	0,300	0,233	0,115	-0,139	-0,617
3,204	0,064	0,143	0,126	0,119	-0,105	-0,157
2,000	0,079	0,602	0,190	0,160	-0,673	-0,810
2,301	0,065	0,412	0,150	0,120	-0,611	-0,800
2,602	0,051	0,320	0,138	0,098	-0,490	-0,758
2,903	0,061	0,168	0,118	0,080	-0,274	-0,751
3,204	0,058	0,152	0,127	0,087	-0,134	-0,511
2,000	0,081	0,675	0,223	0,198	-0,621	-0,706
2,301	0,062	0,482	0,168	0,128	-0,598	-0,804
2,602	0,05	0,288	0,125	0,115	-0,502	-0,564
2,903	0,059	0,221	0,128	0,093	-0,371	-0,678
3,204	0,055	0,161	0,079	0,082	-0,645	-0,594
3,505	0,052	0,124	0,092	0,073	-0,255	-0,535

Примечание: \* – представлены результаты трех повторных измерений.

**Таблица 2.**

**Результаты статистического анализа выборок показателей контраста (C), установленных в гетерологичных реакциях с сыворотками  $S_{D274}$  и  $S_{4/91}$**

Выборка показателей контраста	Оценка симметрии (A)	Статистика асимметрии ( $m_A$ )	Оценка эксцесса (E)	Статистика эксцесса ( $m_E$ )	Среднее значение ("lgC)	Стандартное отклонение ( $\pm G_C$ )
lg C1 ( $S_{D274}$ )	0,275	0,528	1,483	0,882	-0,420	$\pm 0,196$
lg C2 ( $S_{4/91}$ )	1,058		1,510		-0,655	$\pm 0,177$

Предлагаемый вариант показателя контраста оптики гетерологической реакции (С) практически повторяет известную для ИФА S\Р-оценку, с той разницей, что произведена замена оптической величины положительно-го контроля на ОП гомологической реакции. Показано, что в установленных границах рабочего диапазона выборки значений IgC имеют нормальное распределение и их средние величины ("IgC) пригодны для стандартных статистических операций.

Установлено, что показатели "IgC, установленные для сывороток  $S_{D_{274}}$  и  $S_{4/91}$  по отношению к сыворотке  $S_{H-120}$  имели высокий уровень значимости, что свидетельствовало о существенных антигенных различиях соответствующих вирусных штаммов. Опираясь на положение Архетти и Хорсфалла [4], величины "IgC были использованы в качестве оценок одностороннего антигенного родства штаммов  $D_{274}$  и 4/91 по отношению к штамму H-120. Искомые оценки в размерности долей и с указанием границ диапазона ошибки измерений составили " $C_{D_{274}} = 0,380 [0,339 \div 0,426]$  и " $C_{4/91} = 0,221 [0,200 \div 0,245]$ .

## Благодарность

Авторы выражают искреннюю благодарность в. н. с. Меньщиковой А. Э и Самсоновой А. С за помощь при выполнении ИФА.

## Список литературы

1. Борисов, А. В. Инфекционный бронхит кур. Эффективность ведения промышленного птицеводства в современных условиях / А. В. Борисов. Мат. науч.-практ. конф. – СПб : Издатель, 2012. – С. 12–15.

2. Егоров, А. М. Теория и практика иммуноферментного анализа / А. М. Егоров и др. – М. : Высшая школа, 1991.

3. Закс, Л. Статистическое оценивание / Л. Закс. – М. : Статистика, 1976. – 598 с.

4. Archetti, J. Persistent antigenic variation of influenza A viruses after incomplete neutralization in ovo with heterologous immune serum / J. Archetti, F. Horsfall // J. Exp. Med. – 1950, Vol. 92, № 5. – P. 441–462.

5. De Wit, J. Detection of infectious bronchitis virus / J. De Wit // Avian Pathol. – 2000, Vol. 29. – P. 71–93.

6. De Wit, J. Efficacy of infectious bronchitis virus vaccinations in the field: association between the  $\alpha$ -IBV IgM response, protection and vaccine application parameters / J. De Wit et al. // Avian Pathol. – 2010, Vol. 39. – P. 123–131.

7. Infectious Bronchitis Virus Antibody Test Kit Synbiotics Corporation [Электронный ресурс] <http://www.synbiotics.com/Products/ProductionAnimals/Avian/ChickenProFLOKELISAKits/InfectiousBronchitisVirus/96-6506-TDS.pdf> (accessed: 7.11.2013)

8. Jing, Li. Comparative analysis of the effect of glycyrrhizin diammonium and lithium chloride on infectious bronchitis virus infection in vitro / Li. Jing, Yin Jiechao et al. // Avian Pathol. – 2009, Vol. 38. – P. 215–221.

9. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2013. [World Organisation For Animal Health [Электронный ресурс] [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.03.02\\_AIB.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.02_AIB.pdf) (accessed: 8.12.2013)

10. Wu, Z. Q. Antigenic and immunogenic characterization of infectious bronchitis virus strains isolated in China between 1986 and 1995 / Z. Q. Wu, Q. W. Yang et al. // Avian Pathol. – 1998, Vol. 28. – P. 578–585.

11. Zanella, A. Avian Infectious Bronchitis: Characterization of New Isolates from Italy / Zanella A. et al. // Avian Diseases. – 2003, Vol. 47, N 1. – P. 180–185.

12. Zellen, G. Determination of the Antigenic Relationships among Six Serotypes of Infectious Bronchitis Virus Using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Serum-Neutralization Test / G. Zellen, J. Thorsen // Avian Diseases. – 1987, Vol. 31, N 3. – P. 455–458.

# КЯ



**ВСЕРОССИЙСКАЯ ВЕТЕРИНАРНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ**  
в рамках специализированной выставки «Зоомир. Домашние животные»

**14 ноября 2014 года**  
МВДЦ «Сибирь», г. Красноярск

Мероприятие станет главной площадкой года для практикующих ветеринарных врачей Сибирского федерального округа, где участники обсудят новые возможности ветеринарной медицины, вопросы лабораторной диагностики и профилактики заболеваний, познакомятся с новыми тенденциями, получат новые знания, обсудят насущные вопросы и проблемы, укрепят партнерские связи.

Организаторы: Красноярская Краевая гильдия практикующих ветеринарных врачей, ЗАО ВК «Красноярская ярмарка»

**Справки:** Харитоновна Олеся, т. (391) 228-86-20, м. т. +7 (923) 270-00-40, e-mail: olesya@krasfair.ru  
[www.krasfair.ru](http://www.krasfair.ru)



GLOBAL VENTUM

# ДЕНЬ

## ВЕТЕРИНАРНОГО ВРАЧА

25 июля 2014 года, в разгар лета, впервые состоится уникальное мероприятие – День ветеринарного врача.

Ветеринарные специалисты – это люди, которые искренне любят животных и находят свое призвание в помощи тем, кто еще меньше, чем человек, защищены от болезней, травм, негативного воздействия техногенной среды. Понимая всю важность их работы, компания GLOBAL VENTUM решила организовать настоящий праздник, восхваляющий благородную и нужную профессию, требующую колоссальных знаний и, зачастую, мужества.

На природе в неформальной обстановке, в кругу коллег, друзей и членов семьи соберутся врачи и руководители российских ветеринарных клиник, практики и теоретики, а также представители ведущих компаний, работающих на рынке товаров для лечения и ухода за мелкими домашними животными.

Гостей ждут развлекательные и одновременно познавательные мастер-классы, конкурсы, занимательные викторины, розыгрыш призов, яркая выставка-ярмарка, на которой будут представлены лучшие товары и инновационные разработки, и, конечно же, красочный фейерверк.

Приглашаем вас принять участие в празднике! Вы получите уникальную возможность приятно провести летний день вместе с коллегами, людьми, разделяющими ваши профессиональные ценности, интересы и стремления.

Участие в празднике – бесплатное, по предварительной регистрации!

# 25

*GLOBAL VENTUM (ранее известная как «АгроВетКонсалтинг») – один из крупнейших организаторов ветеринарных мероприятий в России. Компания реализует такие крупные образовательные проекты в ветеринарии, как Программа последипломного образования ветеринарных специалистов и Сочинский Ветеринарный Фестиваль.*

# ИЮЛЯ

За дополнительной информацией просим обращаться к организатору:

**GLOBAL VENTUM**  
Тел.: +7 495 989-43-70  
E-mail: [info@globalventum.ru](mailto:info@globalventum.ru)  
[www.globalventum.ru](http://www.globalventum.ru)

УДК 616-074:579.841.930

Ключевые слова: иммуноферментный анализ, сайга, антиген, сыворотка, иммуноглобулин

Key words: enzyme immunoassay, saiga, antigen, serum, immunoglobulin

Сейсенбаева М. С., Кошеметов Ж. К., Сандыбаев Н. Т., Нурабаев С. Ш.,  
Матвеева В. М., Богданова М. И., Сугирбаева Г. Д.

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ  
ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА С ЦЕЛЬЮ ВЫЯВЛЕНИЯ  
АНТИГЕНА ВОЗБУДИТЕЛЯ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА  
PREPARATION OF DIAGNOSTIC PRODUCTS FOR ELISA AIMING  
TO DETECT THE ANTIGEN OF PASTURELLOSIS AGENT**

РГП «НИИ проблем биологической безопасности» КН МОН РК

Адрес: 080406, Республика Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, п. г. т. Гвардейский  
RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" SC ME&S RK

Address: 080406, Republic of Kazakhstan, Zhambylskaya Oblast, Kordaiskiy Rayon, Gvardeiskiy

Сейсенбаева Мадина Сагадатовна, ст. лаборант / *Seisenbayeva Madina S., Senior Laboratory Assistant*

Кошеметов Жумагали Каукарбаевич, к. б. н., зав. Лабораторией

*Koshemetov Zhumagali K., Ph.D. in Biology Science, Laboratory Chief*

Сандыбаев Нурлан Тамамбаевич, к. б. н., ассоциированный проф., зам. ген. Директора

*Sandybayev Nurlan T., Ph.D. in Biology Science, Associated Professor, Deputy Director General*Нурабаев Сергазы Шуратбаевич, ст. научн. сотрудник / *Nurabayev Sergazy Sh., Senior Researcher*

Матвеева Валентина Михайловна, к. б. н., вед. научн. сотрудник

*Matveyeva Valentina M., Ph.D. in Biology Science, Leading Researcher*Богданова Марина Ивановна, научн. сотрудник / *Bogdanova Marina I., Researcher*Сугирбаева Гульнур Джолдасбековна, мл. научн. Сотрудник / *Sugirbayeva Gulnur D., Junior Researcher*

**Аннотация.** Приготовлен специфический антиген из штамма «*Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*», активность которого составила в реакции диффузионной преципитации (РДП) 1 : 32. Предложена оптимальная схема получения антисыворотки к возбудителю пастереллеза на овцах, активность антисыворотки в РДП – 1 : 16. На основе данной антисыворотки приготовлены диагностические препараты (иммуноглобулины и конъюгаты), и с применением данных препаратов поставлен ИФА для выявления антигена возбудителя пастереллеза.

**Summary.** The specific antigen from "*Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*" strain has been prepared; activity in diffusion precipitation reaction (DPR) was 1 : 32. The optimal diagram for receiving antiserum to agent of Pasteurellosis on sheep is proposed, activity of antiserum in diffusion precipitation reaction was 1 : 16. Diagnostic preparations (immunoglobulins and conjugates) have been prepared on the base of this antiserum. ELISA has been used with these preparations for detection antigen of Pasteurellosis agent.

### Введение

Широкое географическое распространение пастереллеза, восприимчивость к нему всех видов домашних животных, многих диких млекопитающих и птиц, а также значительный ущерб, наносимый им, требует совершенствования существующих диагностических методов и лечебно-профилактических мероприятий.

В настоящее время для диагностики и дифференциации пастереллеза используются микробиологические методы и лабораторные тест-системы.

Из лабораторных тест-систем в мировой практике для диагностики возбудителя пастереллеза применяются: реакция непрямой

гемагглютинации (РНГА), РДП, иммуноферментный анализ (ИФА), полимеразной цепной реакция (ПЦР) и другие методы.

Среди лабораторных методов ИФА находит широкое применение в здравоохранении, различных областях сельского хозяйства, промышленной биотехнологии, природоохранной деятельности и научно-исследовательской работе как экспресс тест-система.

Достоинствами ИФА является возможность ранней диагностики инфекции, возможность проследить динамику развития процесса, быстрота и удобство в работе. Метод ИФА продолжает широко применяться для определения напряженности иммунитета к возбудителю пастереллеза

с целью эпидемиологического и эпизоотического надзора за инфекцией среди животных и птиц в Российской Федерации, США и Европейских странах [6].

Высокая чувствительность в сочетании с быстротой анализа от нескольких минут до нескольких часов, возможностью одновременного тестирования большого количества образцов и отсутствием особой необходимости в предварительных операциях по очистке и концентрированию анализируемого соединения в образце придают ИФА неоспоримые преимущества перед другими аналитическими методами. Метод ИФА обладает высокой чувствительностью и специфичностью, которая в настоящее время составляет более 90 %.

Метод ИФА используется как диагностическая тест-система с 1972 года, однако создается необходимость каждый раз оптимизировать условия постановки для диагностики новых выделенных штаммов возбудителей бактериальных и вирусных инфекций, т. к. в процессе эволюций могут быть изменены антигенные свойства одной той же инфекции.

В связи с вышеизложенным в этой работе приведены данные по приготовлению диагностических препаратов на основе штамма «*Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*» возбудителя пастереллеза, выделенного на территории Западно-Казахстанской области в 2011 году от павших сайгаков, пригодных для оптимизации условий постановки ИФА по выявлению антигена вышеуказанной инфекции.

## Материалы и методы исследования

**Возбудитель.** В работе использовали штамм «*Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*».

**Бактериальную массу** штамма «*Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*» получали путем посева на питательный агар с 20 % сывороткой крови КРС и проводили инкубацию в течение 24–48 часов при 37 °С по общепринятому методу. Активность наработанной бактериальной массы в РДП составила 1 : 8 – 1 : 16.

**Приготовление антигена.** Полученную бактериальную массу штамма «*Pasteurella/*

*Saigas/2011/ZKO/KZ*» инактивировали формалином в конечной концентрации 0,3 % в течение 24 часов при 37 °С при постоянном перемешивании. При проверке полноты инактивации возбудителя пастереллеза на мышатах и на питательном агаре, мышата оставались живыми в течение 7 суток (срок наблюдения) и на питательном агаре рост колоний в течение трех суток не наблюдался. В ходе опыта установлено, что формалин в конечной концентрации 0,3 % в течение 24 часов при 37 °С полностью инактивирует бактериальные пробы. С целью освобождения суспензий от клеточных балластов их отмывали трехкратно физиологическим раствором путем центрифугирования при 1000 об./мин. в течение 15 минут, затем сконцентрировали пробы 10-кратно. Далее антиген приготовлен 5 способами.

**1 способ** – осаждение суспензии при 15000 об./мин. в течение 15 минут, добавление к осадку Bug Buster Mix из расчета 5 мл на 1 г. Осадок тщательно ресуспендировали в течение 5 минут встряхиванием вручную. Затем инкубировали 60 минут на ротаторе (медленное перемешивание) при комнатной температуре. Центрифугировали при 16000 g 20 минут при 4 °С, надосадок – растворимые белки, осадок – нерастворимые белки.

**2 способ** – обработка суспензии УЗИ по 5 секунд 3 раза (21 кГц, 20–30 миллиампер), очистка от балластов центрифугированием при 1000 об./мин. 10 мин. Затем надосадок очищали через слой 30 % сахарозы центрифугированием при 20000 об./мин. в течение 15 минут, отмывка от сахарозы.

**3 способ** – отмывка трехкратно путем центрифугирования при 1000 об./мин. в течение 10 мин.

**4 способ** – обработка УЗИ по 5 секунд 3 раза (21 кГц, 20–30 миллиампер), очистка от балластов центрифугированием при 1000 об./мин. 10 мин. Надосадок обрабатывали твин-эфиром, для этого к суспензии добавляли 0,1 % твина-80 и оставляли на холоде в течение 30 минут, изредка помешивая. Затем суспензию смешивали на холоде с эфиром в соотношении 1 : 1 и выдерживали в течение 2 часов при 4 °С,

постоянно встряхивая на шуттель-аппарате. Нижнюю слабоопалесцирующую водную фазу отделяли и удаляли остатки эфира выветриванием в течение суток при 4 °С, материал осветляли путем центрифугирования при 1000 об./мин. 10 мин. Затем очищали через 30 % сахарозу центрифугированием при 20000 об./мин. в течение 15 минут, отмывали от сахарозы.

5 способ – по методу Grosset [8]. С этой целью культуры пастереллеза выращивали на питательной среде с рН 7,2–7,4 в течение 18–24 часов при 37 °С. Микробные клетки осаждали центрифугированием при 4000 об./мин. в течение 20 минут и трижды отмывали физиологическим раствором рН 7,0–7,2. Осадок микробных клеток разбавляли небольшим объемом дистиллированной воды до получения взвеси 50 млрд в 1 мл (по оптическому стандарту мутности). Микробные клетки разрушали путем замораживания при минус 60 °С и оттаивания (37 °С) от 12 до 14 раз. После последнего оттаивания взвесь центрифугировали при 6000 об./мин. в течение 20 мин. Полученная насадочная жидкость представляет собой комплекс водорастворимых антигенов.

Содержание белка в препаратах определяли по методу Лоури [9], используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин (БСА) фирмы “Sigma” (США).

Коммерческий ПЦР набор фирмы «Vactotype», Германия. Постановку осуществляли согласно наставлению по применению данного набора.

Животные. Донорами специфических антител служили козы и овцы местной породы в возрасте до одного года.

Специфические иммуноглобулины к антигену возбудителя пастереллеза из специфических антисывороток выделяли спиртовым методом по Кону [5].

Специфические конъюгаты получали по методу Wilson M.B., Nakane P.K. [10]. В работе использовали пероксидазу хрена фирмы “Sigma” (США) типа VI-A.

### Результаты исследований

Антигенную активность приготовленных препаратов проверяли путем введения материалов кроликам внутривенно в объеме по 0,5 см<sup>3</sup>. Через неделю после введения материалов отобранные от кроликов сыворотки крови проверяли на образование антител в РДП и ИФА, результаты представлены в таблице 1.

По результатам таблицы можно судить, что антигены, приготовленные разными способами, способствуют образованию антител в организме крольчат после однократного введения исследуемых проб через 7 суток. Активность антител составила в ИФА в пределах 1 : 400 – 1 : 6400, также с помощью РДП в трех пробах были выявлены антитела к возбудителю пастереллеза в цельном виде.

В ходе проведенного исследования удалось сконцентрировать, очистить и проверить антигенные свойства штамма «Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ» возбудителя пастереллеза.

В дальнейшем были проведены опыты по получению антисывороток к штамму «Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ» возбудителя пастереллеза на разных видах животных с применением антигена, приготовленного по методу Grosset, т. к. по данным таблицы 1

Таблица 1.

### Антигенные свойства приготовленных разными способами антигенов

Наименование материала для введения	Штамм	Активность в	
		РДП	ИФА
1 способ	«Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ»	+	1 : 800
2 способ		-	1 : 1600
3 способ		-	1 : 400
4 способ		+	1 : 3200
5 способ		+	1 : 6400

Примечание: + – положительный результат; «-» – отрицательный результат.

можно судить, что в организме кроликов активный иммунный ответ получен на данный антиген [8].

При получении антисывороток к возбудителю пастереллеза использовали коз и овец местной породы в возрасте 8–12 мес. Животных до проведения экспериментов выдерживали на карантине в течение 2 недель с проведением термометрии, клинического осмотра и исследованием сывороток крови на наличие вируснейтрализующих антител. Содержание животных проводили в соответствии с «Инструкцией по содержанию подопытных животных и ветеринарно-санитарным правилам в экспериментально-биологических изоляторах» НИИПББ инв. № 1069 [4].

Схемы получения антисывороток к возбудителю пастереллеза представлены в таблице 2.

Оценку активности и специфичности полученных антисывороток проводили в РДП. Результаты проведенного опыта по получению антисывороток к возбудителю пастереллеза и оценка их активности представлены в таблице 3.

Из результатов таблицы 3 видно, что активность овечьей антисыворотки к возбудителю пастереллеза составила в РДП 1 : 32, в ИФА – 1 : 3200, козья антисыворотка показала активность в РДП – 1 : 4, в ИФА – 1 : 100 – 1 : 800. Неспецифические реакции с гетерогенными антигенами не наблюдались, что свидетельствует о специфичности полученных нами антител.

В дальнейшем в наших опытах проводились работы по выделению иммуноглобулинов из специфических сывороток крови к возбудителю пастереллеза, полученных на овцах. Выделение иммуноглобулина из антисыворотки к возбудителю пастереллеза проводили двумя методами. Первый способ заключался в использовании 3-ступенчатого осаждения альбумина и иммуноглобулина различными концентрациями этилового спирта по методу Кона, и второй с помощью сернокислого аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  [5]. Выделенные иммуноглобулины проверяли на активность и специфичность в РДП, результаты исследований представлены в таблице 4.

Как свидетельствуют данные таблицы 4, из испытанных двух методов выделения иммуноглобулинов из специфических сывороток более приемлемым оказался спиртовой метод по Кону, активность иммуноглобулина, выделенного по данному методу, в РДП составила 1 : 32–64, а активность иммуноглобулина, выделенного сернокислым аммонием, в РДП была на один порядок ниже.

На основе приготовленных иммуноглобулинов были получены вирусспецифические иммунопероксидазные конъюгаты по методу Wilson M. B., Nakane P. K. [10]. Для приготовления специфического конъюгата использовали иммуноглобулин, выделенный по методу Кона. Активность и специфичность приготовленного иммуноферментного конъюгата проверяли в ИФА, предельная активность которого составила 1 : 800 – 1 : 1600, а рабочее разведение – 1 : 100.

С использованием приготовленных препаратов был оптимизирован прямой вариант ИФА для обнаружения антигена возбудителя пастереллеза. Для оптимизации условий постановки ИФА были испытаны разные временные и температурные параметры постановки ИФА, подобраны буферные растворы и рабочие концентрации компонентов реакции.

Оптимизированный вариант ИФА был испытан на специфичность и эффективность. Для этого при постановке ИФА использованы гомогенные и гетерогенные пробы, результаты представлены в таблице 5.

Из результатов таблицы 5 видно, что в исследуемых органо-тканевых пробах с помощью конъюгата к возбудителю пастереллеза выявлен антиген пастереллеза в титрах 1 : 16 – 1 : 32, а в концентрированных культуральных пробах – 1 : 3200–6400. В тоже время все нормальные и гетерологичные образцы показали отрицательный результат в ИФА.

## Обсуждение результатов

С целью определения оптимальных условий очистки и концентрирования бактерий пастереллеза до настоящего времени зарубежными учеными проведены определенные исследования. Так, например, Самуйленко А. Я. с соавторами и Рубан Е. А.

Таблица 2.

Схемы получения антисывороток к возбудителю пастереллеза

№ схемы	Вид животного	Наименование вводимого материала	Способ введения	Концентрация белка, мкг/см <sup>3</sup>	Интервал между введениями, сут.
1	Баран	штамм «Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ»	В область предлопаточных лимфатических узлов	80	18
				150+0,05 % ГОА	9
				250+2,5 % Montanid ISA-71	7
2	Коза	штамм «Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ»	В область предлопаточных лимфатических узлов	80	18
				150+0,05 % ГОА	9
				250+2,5 % Montanid ISA-71	7

Таблица 3.

Оценка активности антисывороток к возбудителю пастереллеза в РДП

Наименование антисыворотки	Активность			
	в РДП			в ИФА
	AgC бруцеллеза	AgH	AgC	1 : 3200
Овечья	-	-	1/32	1 : 800
Козья	-	-	1/4	

Примечание: «-» – отрицательный результат; AgH – антиген нормальный; AgC – антиген специфический.

Таблица 4.

Активность и специфичность иммуноглобулинов в РДП

Исходная активность сыворотки в РДП	Методы выделения иммуноглобулина	Активность иммуноглобулинов в РДП		
		AgC бруцеллеза	AgC С	AgH
Овечьи 1 : 32	по Кону γ-глобулин	-	1 : 32–64	-
	по Кону В-глобулин	-	1 : 32–64	-
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> иммуноглобулин	-	1 : 32	-

Таблица 5.

Результаты исследования проб на выявление антигена возбудителя пастереллеза в ИФА

№ п/п	Наименование проб	Активность в ИФА
1	Предлопаточный лимфатический узел от павшего козленка после заражения штаммом «Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ»	1 : 16 – 1 : 32
2	Селезенка от павшего козленка после заражения штаммом «Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ»	1 : 16 – 1 : 32
3	AgS возбудителя <i>E. coli</i>	-
4	AgS возбудителя <i>B. abortus</i> 19	-
5	AgN из ПБ	-
6	AgS штамма «Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ» возбудителя пастереллеза	1 : 3200 – 1 : 6400

Примечание: «-» – отрицательный результат; AgS – антиген специфический; AgN – антиген нормальный; ПБ – питательный бульон.

с соавторами (2000, 2003) для получения биомассы возбудителя пастереллеза в работе использовали производственные штаммы *Pasteurella multocida* А-1231, В-681 и Д-Т-80. Питательные среды для выращивания вакцинных штаммов готовили по действующим инструкциям на монопрепараты, а их выращивание осуществляли в лабораторных ферментерах АНКУМ-2М, оснащенных системами автоматического контроля и регулирования основных параметров культивирования (температура, рН и  $\text{CO}_2$ ).

Концентрация культур производственных штаммов по окончании процесса выращивания (10–12 часов) была  $22 \pm 2$  млрд м. т. / мл.

Культуры пастерелл инактивировали формалином в конечной концентрации 0,3 % при температуре 37 °С в течение 24 часов и концентрировали методом центрифугирования.

Кроме того, в последние годы за рубежом изготавливается целый ряд вакцинных и сывороточных препаратов против пастереллеза [3, 2].

Исследования по отработке схемы гипериммунизации и получению опытных партий сывороток против пастереллеза свиней проводили на Армавирской биофабрике (Школьников Е. Э. и др., 2007; Гринь С. А. и др., 2007).

Для этого были сформированы пять групп свиней по пять голов в каждой.

Гипериммунизацию свиней проводили путем внутримышечных инъекций возрастающих доз инактивированных концентрированных пастереллезных антигенов с интервалом в 2–3 сут. При этом исследователи антигены вводили раздельно в разные участки тела животного. Авторами были испытаны пять схем, отличающихся дозой антигена и количеством инъекций.

В результате гипериммунизация свиней путем 10 внутримышечных инъекций в возрастающих дозах инактивированного концентрированного пастереллезного антигена в общем количестве по 1000 млрд микробных тел (м. т.) позволяет получить сыворотку с титрами антител в РА : к *P. multocida* А, D – 1 : 400, В – 1 : 800.

Таким образом, авторы предлагают для получения сыворотки против пастереллеза свиней следующую схему гипериммунизации: 8–10 инъекций пастереллезного антигена в общей дозе – 645–1000 млрд м. т., с интервалом в 2–3 дня [7, 1].

Подитоживая полученные в данной работе результаты, можно сказать, что приготовленные нами диагностические препараты при пастереллезе по активности и специфичности не уступают зарубежным аналогам.

## Заключение

В результате проведенных исследований был приготовлен активный концентрированный и очищенный антиген возбудителя пастереллеза из штамма «*Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*», активность которого в РДП составила 1 : 32.

С использованием данного антигена получены активные и специфичные антисыворотки в разных видах животных. Наиболее активные и специфичные антитела к штамму «*Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*» возбудителя пастереллеза получены на овцах, активность данной сыворотки в РДП составила 1 : 32, в ИФА – 1 : 3200.

Из испытанных двух методов выделения иммуноглобулинов из специфических сывороток более активные иммуноглобулины получены спиртовым методом по Кону, активность иммуноглобулина в РДП составила 1 : 32–64.

На основе иммуноглобулина приготовлен специфический иммунопероксидазный конъюгат по методу Wilson M. B., Nakane P. K. Предельная активность его в ИФА составила 1 : 800 – 1 : 1600, а рабочее разведение – 1 : 100.

С применением данных препаратов был поставлен ИФА для идентификации пастереллеза в образцах биологического материала.

## Список литературы

1. Гринь, С. А. Изучение гипериммунной сыворотки против гемофилеза, стрептококкоза и пастереллеза свиней на продуцентах-свиньях / С. А. Гринь, Е. Э. Школьников, Г. Ф. Коломина, В. В. Меньшенин, Е. В. Кржижановская, А. К. Чулков, Д. И. Скородумов, Л. Я. Старцева, Е. В. Малик // Материалы Международной научно-практической конференции «Научные

основы производства ветеринарных биологических препаратов». – Щелково, 2007. – С. 249–253.

2. Рубан, Е. А. Некоторые проблемы глубинного культивирования клеток животных в биореакторах / Е. А. Рубан, Б. В. Соловьев, С. А. Самуйленко, А. Я. Самуйленко, В. И. Ключкина // Биологическая научно-практическая конференция ВГНКИ. – Москва, 2000. – С. 290–293.

3. Самуйленко, А. Я. Исследование гибели клеток в процессе аэрации при глубинном культивировании в биореакторе / А. Я. Самуйленко, Е. А. Рубан, М. А. Гунин, С. А. Самуйленко // Международная научно-практическая конференция «Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными, экзотическими и зооантропонозными болезнями животных» во Всероссийском научно-исследовательском институте ветеринарной вирусологии и микробиологии. – Покров, 2000. – С. 199–203.

4. Сансызбай, А. Р. Инструкция по содержанию подопытных животных и ветеринарно-санитарным правилам в экспериментально-биологических изоляторах : инв. № 1069. Утв. генеральным директором НИИПББ Республики Казахстан.

5. Фримель, Г. Иммунологические методы. – М. : Медицина, 1987. – 472 с.

6. Хралович Т. М. Получение специфического сенситина для ИФА из штаммов *Pasteurella multocida* серотипов А1, А3, А4 // Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария. – Минск. – 2006, № 3. – С. 57–62.

7. Школьников, Е. Э. Способ получения гипериммунной сыворотки против гемофилеза, стрептококкоза и пастереллеза свиней / Е. Э. Школьников, Г. Ф. Коломнина, А. Я. Самуйленко, С. А. Гринь, Э. А. Шегидевич, Л. Я. Ставцева, М. А. Сидоров, Д. И. Скородумов, А. Н. Панин, Е. В. Малик, Е. В. Кржижановская, А. К. Чулков / Заявка на патент № 2007123692 от 20.06.2007 г.

8. Grosset, E. C.R. Soc. Biol. – 1935, v. 118 – 765 p.

9. Lowry, O. H. J. Biol. Chem / Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. L. – 1951, v. 193. – P. 265–275.

10. Wilson, M. B. Resent development in the periodate method of conjugating horseradish peroxides (HRPO) to antibodies / M. B. Wilson, P. K. Nakane // Biomedical press, 1978. – P. 215–244.



 **ВЕТЕРИНАР.ru**  
Всё о ветеринарии для врачей и владельцев животных

реклама

- форум
- последние новости
- подборка статей
- справочники
- каталог лекарственных средств
- адреса ветклиник и зоомагазинов
- информация о выставках и конференциях
- анонсы ветеринарных журналов

Заходите на [www.veterinar.ru](http://www.veterinar.ru), и Вы найдёте много интересной и полезной информации!

Приглашаем к сотрудничеству ветеринарных врачей и организации.

e-mail: [invet@inbox.ru](mailto:invet@inbox.ru) [boldyрева@mail.ru](mailto:boldyрева@mail.ru)

тел.: 8 (909) 646-76-43, 8 (916) 181-95-58

УДК 595.421.(470.22)

Ключевые слова: клещ, *Ixodes (Exopalpiger) trianguliceps*, мелкие млекопитающие, численность, лесовозобновление

Key words: tick, *Ixodes (Exopalpiger) trianguliceps*, small mammal, abundance, reforestation

Беспятова Л. А., Бугмырин С. В.

**ЧИСЛЕННОСТЬ IXODES TRIANGULICEPS (ACARI: IXODIDAE)  
И РОЛЬ РАЗНЫХ ВИДОВ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ  
В ЕГО ПРОКАРМЛИВАНИИ ПРИ ЛЕСОВОЗОБНОВЛЕНИИ  
В ТАЕЖНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ**  
*IXODES TRIANGULICEPS (ACARI: IXODIDAE) ABUNDANCES  
AND THE ROLE OF DIFFERENT SMALL MAMMAL SPECIES AS ITS HOSTS  
IN THE COURSE OF REFORESTATION IN BOREAL ECOSYSTEMS*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии  
Карельского научного центра Российской академии наук,  
лаборатория паразитологии животных и растений  
Адрес: 185910, Россия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11  
*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Science,  
Laboratory of Animal and Plant Parasitology  
Address: 185910, Russia, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11*

Беспятова Любовь Алексеевна, к. б. н., доцент, ст. научн. сотрудник  
*Bespyatova Liubov A., Ph.D. in Biology Science, Associate Professor, Senior Researcher*

Бугмырин Сергей Владимирович, к. б. н., ст. научн. сотрудник  
*Bugmyrin Sergey V., Ph.D. in Biology Science, Senior Researcher*

**Аннотация.** В таежных экосистемах Карелии изучена численность иксодового клеща *Ixodes trianguliceps* и его прокормителей – мелких млекопитающих на разных этапах вторичной сукцессии после рубки леса по мере естественного лесовозобновления. Установлено, что на трансформированных территориях основными прокормителями активных преимагинальных фаз развития (личинок и нимф) клеща являются доминирующие здесь *Sorex araneus L.* и *Myodes glareolus Schr.*, а имаго – *M. glareolus*, совместно прокармливающие 94,5 % клещей. Показано, что в процессе лесовозобновления происходит изменение численности клеща, а также роли хозяев в его прокармлении.

**Summary.** The abundance of the tick *Ixodes trianguliceps* and its hosts – small mammals, at different stages of the secondary post-felling succession in a naturally regenerating forest was studied in boreal ecosystems of Karelia. At the active pre-imaginal life phases (larvae and nymphs) the tick fed mainly on the dominant *Sorex araneus L.* and *Myodes glareolus Schr.*, whereas imago ticks – on *M. glareolus*. Altogether, these species hosted 94 % of the ticks. As the forest regenerated the tick abundances changed, and so did the contributions of the hosts.

## Введение

*Ixodes (Exopalpiger) trianguliceps* Birula, 1895 (*Parasitiformes: Ixodinae*) – треххозяинный клещ с примитивным пастбищным типом паразитизма, развитие которого происходит в приземном ярусе и лесной подстилке, а активные фазы прокармливаются преимущественно на мелких млекопитающих. В Карелии список хозяев – прокормителей клеща насчитывает 17 видов, из которых 11 – это представители грызунов, 6 – насекомоядных [5; 1].

*I. trianguliceps* впервые описан в Карелии на берегах Онежского озера, имеет обширный ареал, входящий в состав Палеар-

ктической области. Территория Карелии, на которой клещ распространен повсеместно, представляет северную часть его ареала, где он повсюду немногочислен и приурочен к лиственным и смешанным лесам [5; 1].

*I. trianguliceps* имеет важное эпизоотологическое значение. От клещей этого вида изолированы возбудители клещевого энцефалита [6] и иксодовых клещевых боррелиозов [4]. *I. trianguliceps* является определенным звеном эпизоотического процесса в ряде очагов туляремии [7] и бабезиоза [10].

При освоении тайги значительно изменяются первичные биоценозы и образуются вторичные, что приводит к перераспреде-

нию клещей и их прокормителей по растительным ассоциациям. Как результат антропогенной трансформации таежных массивов происходит затухание старых трансмиссивных природных очагов, в том числе и клещевых, и формирование новых. В таежных экосистемах Карелии было показано, что особенно отчетливо последствия сплошных концентрированных рубок влияют на численность и пространственную структуру популяции таежного клеща и его основных прокормителей [2; 3].

Целью нашей работы является изучение численности *I. trianguliceps* и роли разных видов мелких млекопитающих в его прокормлении по мере естественного возобновления лесной растительности на вырубках.

### Материалы и методы

Исследования проведены на территории южной Карелии в подзоне средней тайги (Кондопожский район, окрестности д. Малая Гомсельга – 62°04' с. ш., 33°55' в. д.). В районе исследования распространены преимущественно вторичные средневозрастные и приспевающие сосновые и смешанные сосново-лиственные леса с примесью ели. Широко представлены вырубки с разной степенью зарастания и молодняки разного возраста. Были выбраны 4 участка, соответствующие разным этапам вторичной сукцессии лесной растительности после проведения сплошных концентрированных рубок.

1 участок – вырубка злаковая необлесившаяся, в стадии формирования лиственного молодняка с примесью ели. Появилась после сплошной концентрированной рубки сосняка зеленомошного 7+ лет назад (здесь и далее возраст вырубки указан на период начала исследования). Биотоп занимает территорию около 20 га. Для почв данного биотопа характерно застойное увлажнение. Древостой представлен ольхой, березой и ивой. Подстилка тонкая (1–2 см) из отмерших злаков. Общий тип биотопа близок к луговому. Всего было отработано 2 335 ловушко-суток.

2 участок – молодняк с возрастом 12+ лет на вырубке из-под сосняка. Биотоп площадью около 50 га, характеризуется низкой степенью увлажнения, почвой подзолисто-

го типа, разреженностью и бедностью флористического состава. Формула древостоя 7Ив2Б1Е+Ол. Подстилка тонкая, образована опадом листвы и остатками отмерших злаков. Всего было отработано 2 335 ловушко-суток.

3 участок – лиственный молодняк с возрастом 25+ лет. Биотоп занимает территорию площадью около 50 га, характеризуется средней степенью увлажнения и почвой подзолистого типа. На вырубке присутствует недоруб из осины и ели. Состав древостоя: 7Ол2Б1Ив. В подросте ольха, рябина, осина, ива, береза и ель. Подстилка хорошо развита, образована отмершими вегетативными частями травянистых растений, ветвями и опадом лиственных пород. Всего было отработано 2 385 ловушко-суток.

4 участок – вторичный смешанный лес. Представлен средневозрастным (80+ лет) сосново-березовым древостоем. Характеризуется средней степенью увлажнения, почвой подзолистого типа. Первый ярус древесного полога образован сосной обыкновенной, елью европейской и березой повислой. Состав первого яруса древостоя 5С3Е2Б. Подлесок богатый, представлен рябиной обыкновенной, можжевельником обыкновенным, ольхой серой, черемухой обыкновенной, шиповником иглистым и другими видами деревьев и кустарников. Моховой покров редок и приурочен к прикорневым повышениям. Подстилка тонкая – 1 см, состоит из хвои и опада лиственных пород, а также остатков травянистых растений. Всего было отработано 5 550 ловушко-суток.

Отлов мелких млекопитающих (далее в тексте ММ) проведен ловушками Геро на стандартных ловушко-линиях, по 50 на каждой в летний период (июнь – август) в течение шести лет (1998–2001 гг. и 2003–2004 гг.). Отловлено 1 115 экз. зверьков, в том числе 192 экз. на первом участке, 266 экз. – на втором, 270 экз. – на третьем и 387 экз. – на четвертом (табл. 1). За показатель относительной численности ММ принималось число зверьков, попавших за сутки работы в 100 ловушек (экз. на 100 лов.-сут.).

Сбор эктопаразитов мелких млекопитающих выполнен стандартными методами.

Всего собрано 697 экз. *I. trianguliceps*: 99, 160, 121 и 317 особей соответственно на 1–4 участках (табл. 2).

В обработке и анализе материала использованы следующие индексы: ИО – индекс обилия в экз.; ИД – индекс доминирования в %, ПП – показатель прокормления (произведение индекса обилия на численность хозяина, пересчитанную на 100 лов.-сут).

## Результаты

Видовой состав ММ обследованных участков представлен 9 видами из двух отрядов: отр. *Rodentia* – 5 видами: европейская рыжая полевка *Myodes glareolus* Schr., пашенная полевка *Microtus agrestis* L., полевка-экономка *M. oeconomus* Pall., лесная мышшовка *Sicista betulina* Pall., мышь-малютка *Micromys minutus* Pall.; отр. *Insectivora* – 4 видами: обыкновенная бурозубка *Sorex araneus* L., малая бурозубка *S. minutus* L., равнозубая бурозубка *S. isodon* и кутора обыкновенная *Neomys fodiens* Tenn. (табл. 1). В суммарных уловах ММ преобладали два вида – *S. araneus* и *M. glareolus*, общая доля которых на разных этапах лесовозобновления колебалась от 85 % до 96 %.

На первом участке (вырубка 7+ лет) были отмечены только личинки и нимфы *I. trianguliceps*, ИО и ПП составили 0,41 и 2,46 соответственно (табл. 2). Основная роль в прокормлении клеща принадлежала трем видам (*S. araneus*, *M. glareolus* и *M. Agrestis*), которые совместно прокармливали 96 % клещей от общего количества клещей на данном участке. Доминирующая здесь *S. araneus* (ИД – 71,9) прокармливала более половины (58 %) личинок и нимф *I. trianguliceps*. *M. glareolus* и *M. agrestis* уступали по численности *S. araneus* и прокармливали значительно меньшее количество активных преимаго – 21 % и 17 % соответственно (табл. 2). *S. minutus* была незначительна в сборах и прокармливала только личинок клеща.

На втором участке (вырубка 12+) на ММ были отмечены личинки, нимфы и взрослые особи клеща *I. trianguliceps*, ИО и ПП составили 0,55 и 4,9, соответственно (табл. 2). Клещ на разных фазах развития был обнаружен у 4 видов ММ из 6 обитающих

здесь. Основное количество (98 %) клещей прокармливали *S. araneus* и *M. glareolus*. *S. araneus* доминировала (ИД – 75,2), и ее роль в прокормлении личинок и нимф увеличилась до 69 % по сравнению с предыдущим участком (табл. 1, 2). Тенденция на увеличение отмечена и для *M. glareolus* как по степени доминирования, так и в прокормлении личинок, нимф и имаго до 29 %. Здесь впервые единично отмечены взрослые клещи на *M. glareolus*. Численность *M. agrestis* в уловах понизилась относительно первого участка (табл. 1), и участие в прокормлении *I. trianguliceps* составило около 1 %. *S. isodon* была малочисленна в сборах и прокармливала менее 1 % *I. trianguliceps*.

На третьем участке (молодняк 25+) личинки и нимфы клеща *I. trianguliceps* были обнаружены у *S. araneus* и *M. glareolus*, только нимфы – у *M. agrestis*, имаго – у *M. glareolus*. ИО и ПП *I. trianguliceps* составили 0,51 и 3,5 соответственно (табл. 2). Основная роль (98 %) в прокормлении клеща по-прежнему принадлежала фоновым видам – *S. araneus* и *M. glareolus*. Относительно второго участка наблюдается незначительное снижение доминирования *S. araneus* и увеличение более чем в два раза *M. glareolus* (табл. 1), что отразилось на их участии в прокормлении клеща: снижение до 68 % для *S. araneus* и увеличении до 31 % для *M. glareolus*. Что касается численности полевки *M. agrestis*, произошло дальнейшее ее снижение (табл. 1), участие в прокормлении *I. trianguliceps* составило 1 %.

На четвертом участке (вторичный смешанный лес 80+) личинки и нимфы клеща *I. trianguliceps* были обнаружены у *S. araneus*, *M. glareolus* и *S. isodon*, только личинки – у *M. agrestis* и *S. minutus*, только нимфы – у *S. betulina*, имаго – у *M. glareolus*. В видовом составе ММ произошли значительные изменения в степени доминирования фоновых видов ММ, а именно – снижение ИД *S. araneus* до 29 % и увеличение *M. glareolus* до 65 % (табл. 1). Остальные виды были немногочисленны, их индексы доминирования колебались от 0,3 до 2,1 %. Основная роль (94 %) в прокормлении клеща по-прежнему принадлежала фоновым видам – *M. glareolus* и *S. araneus*, при этом *M. glareolus* прокарм-

Таблица 1.  
Видовой состав и численность мелких млекопитающих (1998–2001, 2003–2004 гг.) на вырубках по мере их зарастания

Вид зверька	7+ лет			12+ лет			25+ лет			80+ лет		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>Sorex araneus L.</i>	138*	71,9	6,0±1,23	200*	75,2	8,9±2,27	160*	59,3	6,8±1,31	113*	29,2	2,4±0,63
<i>Sorex minutus L.</i>	3*	1,6	0,1	5	1,9	0,2	5	1,9	0,2	4*	1,0	0,09
<i>Sorex isodon L.</i>	0	0	0	6*	2,3	0,3	1	0,4	0,04	5*	1,3	0,1
<i>Neomys fodiens Schreb.</i>	1	0,5	0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sicista betulina Pall.</i>	0	0	0	1	0,4	0,04	2	0,7	0,1	4*	1,0	0,09
<i>Myodes glareolus Sch.</i>	26*	13,5	1,1±0,27	44*	16,5	2,1±0,77	100*	37,0	4,4±1,28	252*	65,1	5,5±0,63
<i>Microtus agrestis L.</i>	20*	10,4	0,8±0,33	10*	3,8	0,5±0,31	2*	0,7	0,1±0,05	8*	2,1	0,17
<i>Microtus oeconomus Pall.</i>	1	0,5	0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Micromys minutus Pall.</i>	3	1,6	0,13	0	0	0	0	0	0	1	0,3	0,02
Σ	192	100	8,3±1,22	266	100	12,0±3,01	270	100	11,6±1,86	387	8,4	

Примечание: 0 – отсутствие видов в сборах; 1 – число обследованных зверьков; 2 – доля зверьков в суммарных отловах (%); 3 – относительная численность зверьков (экз. на 100 лов./сут.); \* – виды зверьков, с которых сняты клещи I. тр.

Таблица 2.  
Численность *Ixodes trianguliceps* на основных прокормителях на вырубках по мере их зарастания

Фаза развития клеща	7+ лет			12+ лет			25+ лет			80+ лет		
	n	ИО	ПП	n	ИО	ПП	n	ИО	ПП	n	ИО	ПП
<i>Sorex araneus L.</i>												
личинка	33	0,24	1,44	82	0,41	3,66	62	0,39	2,65	6	0,05	0,12
нимфа	24	0,17	1,02	28	0,14	1,25	20	0,13	0,88	11	0,1	0,24
Σ	57	0,41	2,46	110	0,55	4,9	82	0,51	3,53	17	0,15	0,36
<i>Myodes glareolus Sch.</i>												
личинка	14	0,54	0,53	35	0,76	1,57	11	0,11	0,49	187	0,74	4,07
нимфа	7	0,27	0,28	11	0,24	0,5	24	0,24	1,1	91	0,36	1,98
имаго	0	0	0	1	0,02	0,04	2	0,02	0,08	4	0,02	0,11
Σ	21	0,81	0,81	47	1,2	2,11	37	0,37	1,67	282	1,12	6,16
Σ ( по всем зверям)	99	0,52	4,3	160	0,6	7,2	121	0,45	5,2	317	0,82	6,89

Примечание: n – количество собранных клещей.

ливалась 89 % активных фаз развития клеща, включая имаго. Остальные виды, обитающие здесь, прокармливали незначительную часть гемипопуляций личинок и нимф клеща.

По мере зарастания вырубок отмечены заметные изменения численности как клещей, так и мелких млекопитающих (рис. 1). Показатели численности личинок колебались в пределах от 2,8 до 5,4, нимф – от 1,6 до 2,6, взрослых – от 0,04 до 0,11. Личинки преобладали на молодняках 12+ лет и вторичном смешанном лесу 80+. Нимфы имели более сглаженный ход численности с максимальными значениями во вторичном смешанном лесу 80+. Взрослые клещи появились лишь в молодняках 12+ лет, и по мере зарастания достигли пика во вторичном смешанном лесу 80+. Наиболее высокие показатели по общей численности клеща (суммарные данные по гемипопуляциям клеща) отмечены в молодняке 12+ лет (ПП – 7,2) и вторичном смешанном лесу 80+ (ПП – 6,9), низкие – на вырубке 7+ лет (ПП – 4,3). По мере зарастания вырубок кривая численности ММ описала дугу, приняв максимальные значения на молодняках от 12+ до 25+ лет (рис. 1А).

Изменения численности клеща (ПП) на всех активных фазах (личинках, нимфах, имаго) на разных участках лесовозобновления прослежены на фоновых видах *S. araneus* и *M. glareolus* (рис. 1Б, 1В).

Для *S. araneus* наиболее благоприятные условия обитания складывались в молодняках 12+ лет, где ее численность достигла максимальных значений по сравнению с экосистемами на более ранних и на более поздних стадиях вторичной сукцессии. По мере зарастания вырубок численность зверька уменьшалась и достигла минимальных показателей во вторичном смешанном лесу 80+ (рис. 1Б). На всех участках лесовозобновления *S. araneus* прокармливал только личинок и нимф *I. trianguliceps*. Наиболее высокие показатели суммарной численности этих фаз развития клеща (ПП – 4,9) также были отмечены в молодняке 12+ лет, а самые низкие (ПП – 0,36) – во вторичном смешанном лесу 80+. Численность *M. glareolus* в процессе лесовозобновления постоянно росла, достигнув пика ( $5,5 \pm 0,63$  экз. на 100 лов.-сут.)

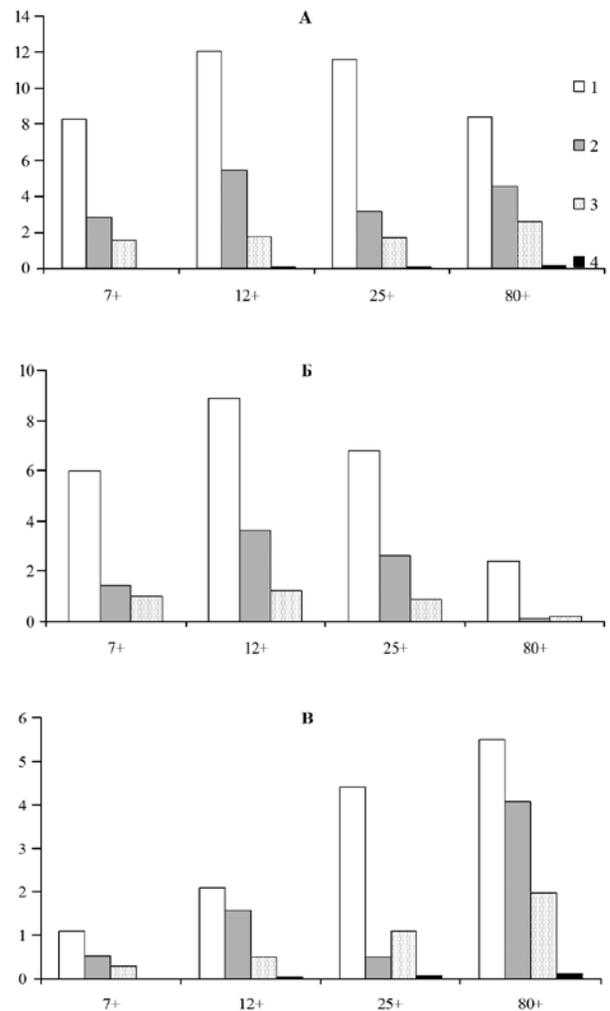


Рис. 1. Численность мелких млекопитающих и показатель прокармливания (ПП) *Ixodes trianguliceps* на разновозрастных вырубках: А – суммарные данные; Б – данные по обыкновенной бурозубки; В – данные по рыжей полевки; 1 – численность мелких млекопитающих (экз. на 100 лов.-сут.), 2 – ПП личинок *Ixodes trianguliceps*; 3 – ПП нимф *Ixodes trianguliceps*; 4 – ПП взрослых *Ixodes trianguliceps*.

во вторичном смешанном лесу 80+ (рис. 1В). Показатель прокармливания личинок на *M. glareolus* варьировал от 0,49 (лиственный молодняк 25+) до 4,07 (вторичный смешанный лес 80+) (рис. 1В). По мере лесовозобновления численность нимф и взрослых клещей постоянно росла, достигнув пика численности во вторичном смешанном лесу 80+.

## Обсуждение

Для *I. trianguliceps* характерна определенная вертикальная ярусность встречаемости каждой из активных фаз развития. Личинки и нимфы не выходят за пределы почвенной подстилки и в большей мере контактируют

с землеройками и полевками, взрослые – с полевками. Отсутствие у личинок и нимф *I. trianguliceps* строгой специфичности к виду хозяина приводит к их перераспределению на те виды, которые преобладают по численности в конкретном биотопе. Так, при близких значениях индекса обилия клещей у разных видов мелких млекопитающих значительно различаются показатели прокормления, что определяется их относительной численностью.

На трансформированных территориях Карелии основными прокормителями активных преимагинальных фаз развития (личинок и нимф) клеща являются доминирующие здесь – *S. araneus* и *M. glareolus*, а половозрелых – *M. Glareolus*, которые прокармливали совместно более 90 % от общего количества клещей на ММ. Такая же закономерность относительно основной роли в прокормлении отдельных фаз клеща обыкновенной бурозубкой и полевками из других видов была отмечена многими авторами для различных географических точек от Швеции [9] до России [8]. По мере естественного лесовозобновления таежных экосистем при изменении степени доминирования фоновых видов мелких млекопитающих изменяется и их роль в прокормлении клещей: увеличивается у рыжей полевки и снижается у обыкновенной бурозубки.

В ходе многолетних исследований сукцессии биоценозов после сплошных рубок нами зафиксированы изменения как в численности клеща на разных фазах развития, так и видового состава и численности хозяев-прокормителей. В первый год после рубки леса *I. trianguliceps* не отмечен [2], что обусловлено резкими изменениями условий обитания для клещей, в результате часть из них гибнет, а часть мигрируют с животными при откочевке в более благоприятные места обитания. На второй год после рубки леса вновь поселяются и начинают преобладать виды зверьков, которые трофически связаны с нижними ярусами растительного покрова, а именно: пашенная полевка, малая и обыкновенная бурозубки. Личинки и нимфы *I. trianguliceps* впервые единично появились только на третий год после рубки леса [2]. По мере зарастания вырубок суммарная численность всех

гемипопуляций (личинка, нимфа, взрослый клещ) клеща постоянно менялась: от максимальных значений в молодняках 12+ лет и во вторичных средневозрастных лесах 80+ до минимальных – в молодняках 7+ лет.

Таким образом, на северной периферии ареала обитания и развития *I. trianguliceps* немногочисленен. На вырубках, находящихся на разных этапах естественного лесовозобновления, система клещ *I. trianguliceps* – ММ достаточно лабильна как по численности клеща, так и по видовому составу и численности их хозяев-прокормителей.

Даже в условиях юга Карелии, где проходили наши исследования, основные прокормители клеща далеко не всегда находят оптимальные условия для жизни, поскольку территория республики для большинства видов микромаммалий составляет периферию обитания. В результате в одни и те же годы в разных биотопах нарушается строгая ритмичность и периодичность в колебаниях численности как основных прокормителей клеща, так и паразитирующих на них клещей. Вся сложность биогеоценотических взаимосвязей не исключает возможности проявления строгой синхронности в динамике численности клещей и их прокормителей.

## Заключение

На разных этапах вторичной сукцессии после рубки леса по мере естественного лесовозобновления система клещ *I. trianguliceps* – мелкие млекопитающие достаточно лабильна по численности и клеща, и их хозяев. Основными хозяевами *I. trianguliceps* являются доминирующие виды – *Sorex araneus* и *Myodes glareolus*, роль которых в его прокормлении изменяется по мере лесовозобновления.

## Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 8101.

## Список литературы

1. Беспятова, Л. А. Межгодовая динамика численности иксодовых клещей и формирование очага клещевого энцефалита в условиях средней тайги / Л. А. Беспятова, Е. П. Иешко, Э. И. Ивантер,

С. В. Бугмырин // Экология. – 2006, № 5. – С. 360–364.

2. Бобровских, Т. К. Влияние рубок леса на состояние популяций иксодовых клещей / Т. К. Бобровских // Эколого-популяционный анализ паразитов и кровососущих членистоногих. – Петрозаводск : Карельский научный центр АН СССР, 1991. – С. 70–75.

3. Бугмырин, С. В. Численность личинок и нимф *Ixodes persulcatus* [Schulze] (Acari: Ixodidae) у мелких млекопитающих на вырубках среднетаежной подзоны Карелии / С. В. Бугмырин, Л. А. Беспятова, В. С. Аниканова, Е. П. Иешко // Паразитология. – 2009, Т. 43. – С. 338–346.

4. Горелова, Н. Б. Изоляция боррелий от клеща *Ixodes trianguliceps* (Ixodidae) и возможное значение этого вида в эпизоотологии иксодовых клещевых боррелиозов / Н. Б. Горелова, Э. И. Коренберг, Ю. В. Ковалевский и др. // Паразитология. – 1996, Т. 31. – С. 13–17.

5. Лутта, А. С. *Ixodes trianguliceps* Bir. и его распространение в Карелии / А. С. Лутта // Паразитология. – 1968, Т. 11. – С. 142–150.

6. Малюшина, Е. П. О выделении вируса клещевого энцефалита из клещей *Ixodes trianguliceps* Bir. / Е. П. Маюшина, Е. П., А. А. Катин // Актуальные проблемы вирусных инфекций. – М., 1965. – С. 135–136.

7. Олсуфьев, Н. Г. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии / Н. Г. Олсуфьев, Т. Н. Дунаева. – М. : Наука, 1970. – 272 с.

8. Штильмарк, Ф. Р. Зоолого-паразитологические материалы к изучению природных очагов инфекций в лесах Западного Саяна / Ф. Р. Штильмарк, Л. М., Климова, Н. К. Носкова и др. // Учен. зап. Кrasнояр. гос. пед. ин-та. – 1963, 24 (5). – С. 44–69.

9. Nilsson, A. Host relations and population changes of *Ixodes trianguliceps* (Acari) in northern Scandinavia / A. Nilsson. – *Oikos*, 25. – 1974. – P. 315–320.

10. Hyssein, H. S. *Ixodes trianguliceps*: seasonal abundance and role in the epidemiology of *Babesia microti* infection in north-western England / H. S. Hyssein // *Ann. Trop. Med. Parasitol.* – 1980, Vol. 74. – P. 531–539.

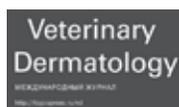
**Ветеринарное Дерматологическое Общество стран СНГ**  
**Российский ветеринарный журнал**  
**Журнал JSAP /Российское издание**

Уважаемые коллеги!

Представляем вашему вниманию Российскую версию официального издания Европейского Общества Ветеринарной Дерматологии, Американской Академии Ветеринарной Дерматологии, Всемирной Ассоциации Ветеринарной Дерматологии – журнал «*Veterinary Dermatology*».

Главный редактор российского издания – Дипломант Европейского колледжа Ветеринарной Дерматологии, Президент Ветеринарного Дерматологического Общества стран СНГ, Заведующая дерматологическим отделением сети клиник «Белый клык» Кузнецова Е. С.

*E-mail: info@logospress.ru*  
*Тел/факс: (495) 220-4816, 689-0575*



УДК 636.92.087.72

Ключевые слова: анемия, профилактика, железо, морфология, селезенка, обмен веществ, патология

Key words: anemia, prevention, ferrum, morphology, spleen, metabolism, pathology

Антипов А. А., Дельцов А. А., Уразаев Д. Н.

**ВЛИЯНИЕ ЭНТЕРАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ  
С РАЗЛИЧНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДОЙ СОЕДИНЕНИЙ ЖЕЛЕЗА  
НА МОРФОЛОГИЮ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС  
ПРИ ИЗУЧЕНИИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ**  
*COMPARATIVE MORPHOLOGICAL STUDY OF THE EFFECT  
OF DIFFERENT TYPES OF MEDICATIONS FOR ENTERAL ADMINISTRATION  
OF IRON ON THE SPLEEN OF RATS*

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

Адрес: 109472, Россия, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

*K. I. Scryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology*

Address: 109472, Russia, Moscow, Akademik Skryabin street, 23

Антипов Александр Александрович, к. в. н., ассистент каф. общей патологии

*Antipov Alexander A., Ph.D. in Veterinary Science, Assistant of the Dept. of General Pathology*

Дельцов Александр Александрович, к. б. н., доцент каф. фармакологии и токсикологии им. И. Е. Мозгова

*Deltsov Alexander A., Ph.D. in Biology Science, Associate Professor*

*of I. E. Mozgov Dept. of Pharmacology and Toxicology*

Уразаев Дмитрий Николаевич, д. в. н., проф. каф. фармакологии и токсикологии им. И. Е. Мозгова

*Urazaev Dmitriy N., Doctor of Veterinary Medicine, Professor of I. E. Mozgov Dept. of Pharmacology and Toxicology*

**Аннотация.** В статье описывается изучение морфологических изменений в селезенке крыс, вызванных введением препаратов железа с различной химической связью. В результате проведенных исследований установлено, что наименьшим повреждающим влиянием на селезенку обладает железо в виде трехвалентного иона в комплексе с полисахаридами (железодекстрин). В то время как соли и хелатные соединения железа обладают более высокой токсичностью.

**Summary.** The paper presents the study of morphological changes in spleen of rats caused by administration of iron preparations with different chemical bond. The results of the study showed that while iron in the form of trivalent ion along with polysaccharides (ferric dextrin) had the least damage effect on the spleen, iron salts and chelates had higher toxic effect.

**Введение**

Проблема дефицита железа у животных актуальна не только в связи с его широким распространением в условиях промышленного животноводства, но и вследствие полиорганной патологии, развивающейся на фоне железодефицитного состояния. От содержания железа в организме зависят процессы адаптации, биоритмы обменных процессов, а также состояние иммунной системы [3, 10].

Серьезность последствий дефицита железа требует проведения соответствующей терапии, в основе которой лежит применение препаратов железа [8, 9]. Однако применение их сопровождается развитием побочных реакций, возникновение которых зависит как

от самого препарата, так и от его дозы [1, 2, 11, 12, 13].

Известно, что организмы имеют механизмы детоксикации в отношении тяжелых металлов, однако чрезмерно длительный и интенсивный стресс, возникающий вследствие увеличения количества тяжелых металлов, в т. ч. железа, в организме часто является причиной развития патологии различных органов и систем организма [9, 14].

Вместе с тем в литературе отсутствуют сведения об изменениях периферических кроветворных органов в процессе развития данного рода интоксикации. Учитывая протективную роль иммунной системы при различных патологических состояниях, в том числе при интоксикациях, исследование се-

лезенки как уникального органа, в котором лимфатическая ткань и ретикулоэндотелиальная система структурно и функционально связаны между собой [7], является актуальной проблемой фармакологии, токсикологии и патологической анатомии.

Цель исследования – изучить морфологические изменения селезенки крыс после энтерального введения лекарственных препаратов с различной химической природой соединений железа (минеральные соли, хелатные комплексы, железо-декстриновые коллоиды) при исследовании острой токсичности.

## Материалы и методы

Исследования проведены на половозрелых белых крысах обоего пола, содержащихся раздельно, массой тела 180–200 г. На всем протяжении опыта животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания.

В опытах были использованы основные виды лекарственных препаратов, представляющие существующие химические соединения железа, представленные в настоящее время на фармацевтическом рынке ветеринарных противоязвенных средств: 1 – минеральная соль (сульфат железа); 2 – хелатный комплекс железа (комплекс этилендиаминдиантарной кислоты и лизина с железом); 4 – железо-декстриновый коллоид.

Препараты вводили однократно внутривентрикулярно при помощи зонда с оливой в объемах, рекомендованных для изучения острой токсичности в соответствии с руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств.

В соответствии с задачами исследования лабораторные животные были разделены на 5 групп: первую опытную (вводили раствор сульфата железа в объеме 5 мл), вторую опытную (вводили раствор комплекса этилендиаминдиантарной кислоты и лизина с железом в объеме 5 мл), третью опытную (вводили железодекстрин в объеме 5 мл) и контрольную (вводили стерильный изотонический раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме). В каждой группе насчитывалось 20 крыс.

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 с последующими патологоанатомическими и гистологическими исследованиями. Материалом для гистологического исследования служили образцы селезенки крыс, из которых готовились гистологические препараты по общепринятым методикам с окрашиванием их для обзорных целей гематоксилином и эозином, а также на железо (III) по Перлсу.

## Результаты

За весь период наблюдения на протяжении 14 дней не наблюдалось гибели животных входивших в контрольную и третью опытную группы, которым вводили железодекстрин. Животные не проявляли клинических признаков интоксикации, свойственных отравлению препаратами железа: не было отмечено нарушений функций пищеварения и мочевыделения, не отмечалось нарушение аппетита, были сохранены рефлексы.

Состояние животных первой и второй опытных групп, получавших соответственно сульфат железа и хелатный комплекс железа, резко отличалось от контроля. Их общее физическое состояние можно охарактеризовать как неудовлетворительное. У животных первой опытной группы, которым вводили сульфат железа, первые клинические признаки интоксикации начали появляться уже через 10–15 минут после введения препарата. Животные вели себя беспокойно, быстрыми движениями хаотично перемещались по клетке, были зарегистрированы тахикардия и тахипноэ. Спустя небольшой промежуток времени (около 10 минут) возбуждение сменялось состоянием угнетения: снижением двигательной активности, множественным спастическим сокращением мышц, одышкой, брадикардией, напряжением брюшной стенки. Все животные первой опытной группы пали в течение часа после введения препарата. К концу вторых суток наблюдения

у животных второй опытной группы состояние угнетения достигало своего пика: наблюдалось полное отсутствие двигательной активности, брадикардия и брадипноэ. Далее животные погибали. Всего пало 8 крыс из 20, входивших в эту группу. У не погибших животных этой группы признаки интоксикации начали постепенно пропадать к концу вторых суток после введения препарата, однако последствия токсического воздействия на организм сохранились до конца эксперимента. При наблюдении за данной опытной группой в течение последующих 14 дней нами отмечалась заторможенность движений животных, вялость, апатия, анемичность кожи и слизистых оболочек.

При патологоанатомическом вскрытии трупов лабораторных животных в органах были найдены следующие изменения. В контрольной группе по окончании эксперимента у животных не было выявлено существенных нарушений в анатомической структуре селезенки. Орган характерного темно-красного цвета, не увеличен, края его были острые, а консистенция упругая. Селезенка животных третьей опытной группы несколько отличалась размерами, была незначительно увеличена, края ее были закруглены, но остальные анатомические параметры не отличались от таковых у контрольной группы животных.

При патоморфологическом изучении трупов животных первой и второй опытных групп, павших в первые два дня эксперимента, наиболее яркие и типичные признаки, свойственные отравлению железосодержащими соединениями, наблюдались в желудочно-кишечном тракте в виде воспалительных и некротических изменений на фоне острого нарушения кровообращения. Однако кроме патологоанатомических изменений желудочно-кишечного тракта, наблюдалась и морфологическая картина нарушения работы селезенки. Селезенка животных первой и второй опытной группы была увеличена в размере относительно контроля в 2–4 раза, края органа были сильно округлые, а поверхность разреза выбухала, орган имел темно-синюшно-красный цвет, при этом с поверхности разреза обильно стекала кровянистая

жидкость темно-красного цвета. Морфологическую картину органа можно охарактеризовать как расстройство кровообращения в виде острой венозной гиперемии.

Микроморфология селезенки контрольной группы животных не нарушена и характерна для лабораторных крыс в данный период развития. Общее морфофункциональное состояние органа контрольных особей характеризуется относительной морфологической зрелостью органа, что подтверждается наличием вполне сформированных лимфатических фолликулов с небольшими, но выраженными герминативными центрами, периартериальными, мантийными и маргинальными зонами.

Морфологические изменения селезенки, отличающие их от контроля, наблюдаются во всех трех опытных группах и характеризуются развитием в большей или меньшей степени выраженных патологических процессов. Так, в первой опытной группе гистоархитектоника селезенки отличается развитием гемодинамических расстройств. Капсула селезенки и отходящие от нее трабекулы истончены. Основные структурные элементы органа в виде белой и красной пульпы хорошо различимы. Фолликулы отличаются средними и мелкими размерами, округлой, овальной или неправильной формой, границы между фолликулами и красной пульпой видны, но плохо различимы. Фолликулы преимущественно сосредоточены по периферии органа, локализуясь ближе к капсуле. Герминативные центры фолликулов небольшого размера, мантийная зона расширена, а маргинальная и периартериальная несколько растушеваны, поэтому плохо различимы. Эндотелий центральных артерий фолликулов набухший, стенка сосудов выглядит рыхлой. Красная пульпа хорошо выражена, занимает большую площадь гистологического среза органа и переполнена эритроцитами – находится в состоянии диффузного полнокровия. В красной пульпе локализуются множественные мелкие кровоизлияния. Сосуды селезенки резко расширены и переполнены кровью, что отчетливо наблюдается как в крупных сосудах, так и в капиллярном русле. Просвет сосудов густо заполнен

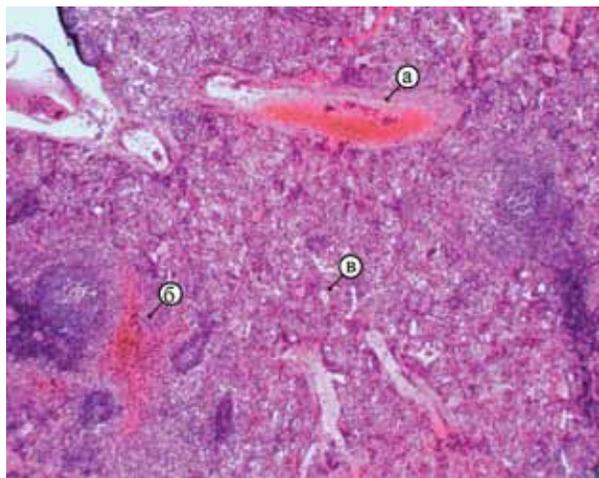


Рис. 1. Гистоархитектоника селезенки крыс первой опытной группы, получавших сульфат железа (гематоксилин и эозин) ок.  $\times 10$ , об.  $\times 7$ : а – венозная гиперемия; б – кровоизлияния; в – капилляры в состоянии гиперемии.

эритроцитами в состоянии агрегации. Часто встречаются макрофаги, в цитоплазме которых отчетливо видны зерна буро-коричневого цвета, дающие положительную реакцию при окраске по Перлсу – гемосидерин. Иногда этот пигмент лежит свободно между клеток.

У животных второй опытной группы наблюдаются наиболее выраженные патологические изменения селезенки, которые несколько отличаются у животных, павших в первые два дня эксперимента, и у животных, которые были вынуждено убиты на заключительный 14 день наблюдения. В первом случае нами наблюдались морфологические изменения органа, которые были аналогичны микроскопической картине селезенки первой опытной группы животных, за исключением значительно большего количества гемосидерофагов в белой и красной пульпе селезенки второй опытной группы.

У остальных животных гистоархитектоника селезенки отличалась еще и характерными изменениями иммунокомпетентной ткани органа. Капсула селезенки и отходящие от нее трабекулы истончены. Основные структурные элементы органа в виде белой и красной пульпы хорошо различимы. Фолликулы отличаются средними и крупными, нередко гигантскими, размерами, округлой, овальной или неправильной формы, часто сливаются друг с другом. Границы их видны,

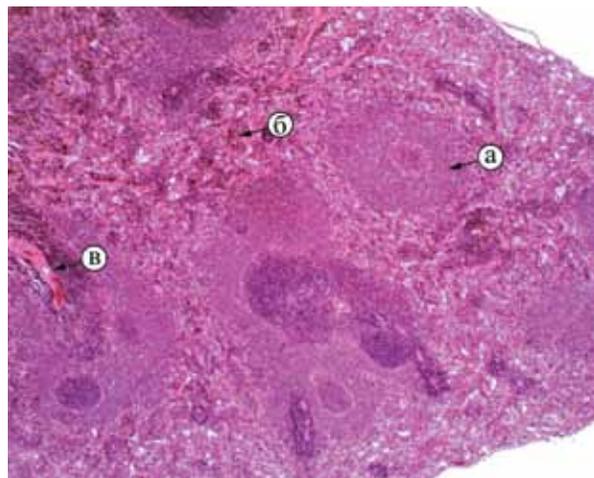


Рис. 2. Гистоархитектоника селезенки крыс второй опытной группы, получавших хелатный комплекс железа (гематоксилин и эозин) ок.  $\times 10$ , об.  $\times 7$ : а – увеличенная маргинальная зона лимфатического фолликула; б – гемосидерофаги; в – гиперемия центральной артерии лимфатического фолликула.

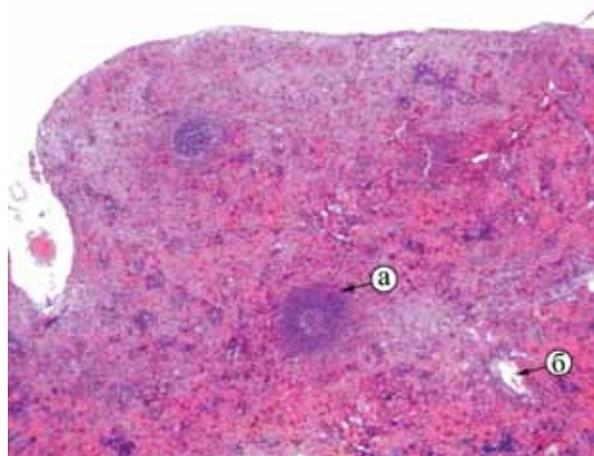


Рис. 3. Гистоархитектоника селезенки крыс третьей опытной группы, получавших железистый коллоид (гематоксилин и эозин) ок.  $\times 10$ , об.  $\times 7$ : а – лимфатический фолликул среднего размера; б – умеренно расширенная вена.

однако выражены нечетко в основном за счет резко расширенной маргинальной зоны. Отмечается ретикулярная гиперплазия и плазматизация как красной пульпы, так и особенно фолликулов селезенки, периферическая зона которых сплошь состоит из плазмобластов и плазматических клеток. Герминативные центры фолликулов небольшого размера. Эндотелий центральных артерий фолликулов набухший, стенка сосуда выглядит рыхлой, сами артерии часто в состоянии гиперемии. Красная пульпа хорошо выражена и находится в состоянии

диффузного полнокровия, при этом синусоидные капилляры значительно расширены, а просветы их заполнены гиперхромными и гемолизированными эритроцитами. В красной пульпе встречаются отдельные мелкие кровоизлияния. Сосуды селезенки умеренно расширены и переполнены кровью. Количество гемосидерофагов – макрофагов, в цитоплазме которых отчетливо видны зерна буро-коричневого цвета, дающие положительную реакцию при окраске по Перлсу, значительно увеличено. Часто гемосидерин можно было обнаружить свободно лежащим между клеток.

При изучении гистологических срезов селезенки животных третьей опытной группы не было выявлено характерных грубых нарушений в структурной организации паренхиматозных органов. Незначительные изменения наблюдаются со стороны капсулы и трабекул, а также ретикулоэндотелиальной системы органа. Капсула селезенки и отходящие от нее трабекулы истончены. Основные структурные элементы органа в виде белой и красной пульпы хорошо различимы. Фолликулы отличаются средними размерами, округлой или овальной формой, границы между фолликулами и красной пульпой четко выражены. Фолликулы рассредоточены по всему объему органа, не группируясь в отдельных местах. Герминативные центры фолликулов небольшого размера, мантийная зона расширена. Периферическая маргинальная и периартериальная зоны фолликулов узкие. Внутри лимфатических фолликулов, несколько эксцентрично, проходит центральная артерия, просвет которой сужен, но полностью никогда не закрыт. Эндотелий центральных артерий фолликулов плоский, без признаков повреждения. Красная пульпа хорошо выражена и находится в состоянии диффузного полнокровия – переполнена эритроцитами. В красной пульпе наблюдается незначительное диффузное скопление лейкоцитов. Сосуды в состоянии умеренного кровенаполнения. Часто встречаются макрофаги, в цитоплазме которых отчетливо видны зерна буро-коричневого цвета, дающие положительную реакцию при окраске по Перлсу.

### Обсуждение

В результате проведенных исследований получены данные, свидетельствующие о том, что препараты железа в виде соли, хелатного или полисахаридного комплекса оказывают влияние на морфологию селезенки лабораторных животных.

Наименьшее патологическое воздействие на ткани селезенки в токсических дозах оказал препарат трехвалентного железа для энтерального введения в виде гидроксид полимальтозного комплекса (железодекстрин). Найденные морфологические изменения в органе характеризуются развитием компенсаторно-приспособительных процессов, представленных умеренной артериальной гиперемией и гемосидерозом на фоне усиленной фагоцитарной активности клеток мононуклеарно-макрофагальной системы. Ранее другими авторами было установлено, что гидроксид полимальтозный комплекс железа в организме экспериментальных животных обнаруживается в основном в ретикулоэндотелиальной системе, где в последующем происходят постепенная утилизация препарата и инкорпорация железа эритроцитами [3]. Таким образом, большая часть железа находится в виде гемосидерина в макрофагах, то есть в неактивной и безопасной для организма форме, что предотвращает губительное действие железа на клетки и ткани.

При энтеральном введении сульфата железа происходит повреждение слизистой желудочно-кишечного тракта в виде язвенно-некротического воспаления, что приводит к развитию травматического шока, морфологическую картину которого мы наблюдали в селезенке. Основные изменения развиваются в органе в виде гемодинамических расстройств. Они характеризуются сильной острой артериальной и венозной гиперемией с нарушением реологических свойств крови. В подтверждение этого можно отметить, что количество железа в макрофагах селезенки увеличилось незначительно вследствие того, что железо не успело включиться в метаболизм. В результате общего перераспределения крови у животных быстро и сильно падает артериальное давление, ухудшается

снабжение тканей кислородом и питательными веществами, развивается тканевая гипоксия, приводящая, прежде всего, к нарушению функции центров головного мозга с развитием сердечной и легочной недостаточности [4].

При введении крысам хелатного комплекса, кроме повреждения эндотелия сосудов и нарушения гемодинамики, в органе отмечается характерная реакция иммунокомпетентной ткани в виде увеличения количества малых и средних лимфоцитов в селезенке крыс в периартериальной и маргинальной зонах на 14 день. В герминативных центрах отмечалось увеличение количества иммунобластов и клеток с фигурами митоза. Морфологическая перестройка белой пульпы селезенки свидетельствует об активации процессов миграции, пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток. Аналогичные процессы, свидетельствующие о развитии иммунологической реакции организма, возникали при воздействии токсических доз других микроэлементов, например меди [6]. По всей вероятности это вызвано обширными повреждениями клеток в результате активации процессов перекисного окисления липидов с последующей сенсбилизацией организма аутоантигенами. Железо, являясь металлом с переменной валентностью, в ряде реакций (Фентона, Хабера – Вайса, Осипова) приводит к образованию активных форм кислорода и оказывает токсическое действие на структурные элементы клеток и тканей организма [1, 12].

## Выводы

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что наименьшим повреждающим влиянием на селезенку обладает железо в виде трехвалентного иона в комплексе с полисахаридами (железодекстрин). В то время как соли и хелатные соединения железа обладают более высокой токсичностью.

## Список литературы

1. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Соросовский Образовательный Журнал. – 2000, Т. 6, № 12. – С. 13–19.
2. Дельцов, А. А. Морфологические изменения органов крыс при изучении хронической токсичности железодекстриновых препаратов / А. А. Дельцов, А. А. Антипов // Ветеринарная медицина. – 2012, № 3–4.
3. Карелин, А. И. Анемия поросят / А. И. Карелин. – М. : Россельхозиздат, 1983. – 166 с.
4. Ловцова, Л. В. Экспериментальное исследование особенностей влияния препарата железа (III) гидроксид полимальтозата на показатели перекисного окисления липидов / Л. В. Ловцова, В. Б. Кузин // Современные технологии в медицине. – 2010, № 3. – С. 35–39.
5. Новодержкина, И. С. Некоторые актуальные проблемы гемоциркуляторной недостаточности при шоке и в постшоковый период / И. С. Новодержкина // Передовые рубежи анестезиологии и интенсивной терапии в медицине катастроф. – Новокузнецк, 1996. – С. 39–40.
6. Сапин, М. Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк. – М. : ЛИН Джаигар, 2000. – 184 с.
7. Сизова, Е. А. Структурно-функциональная организация селезенки крыс при внутримышечном введении наночастиц меди типа CU 10X / Е. А. Сизова, С. В. Лебедев, В. С. Полякова, Н. Н. Глущенко // Вестник ОГУ. – 2010, № 2 (108). – С. 129–132.
8. Трахтенберг, И. М. Тяжелые металлы и клеточные мембраны / И. М. Трахтенберг, Л. А. Иванова // Медицина труда и промышленная экология. – 1999, № 11. – С. 28–32.
9. Трошин, А. Н. Препараты железа в медицине и ветеринарии вчера, сегодня и завтра / А. Н. Трошин, Н. В. Когденко, А. В. Нечаева // Научный журнал КубГАУ – 2007, № 28 (4). – С. 24–34.
10. Уразаев, Д. Н. Биологическая роль железа. Применение железосодержащих препаратов в ветеринарной медицине: монография / Д. Н. Уразаев, А. А. Дельцов, Л. П. Парасюк, Р. Д. Уразаева. – М. : Колос, 2010. – 104 с.
11. Шахов, А. Г. Проблемы сохранности свиней и пути их решения / А. Г. Шахов, В. Мисайлов, Р. А. Шундулаев // Свиноводство. – 2004, № 3. – С. 31–34.
12. Jacobs, A. The pathology of iron overload. In Iron in Biochemistry and Medicine / A. Jacobs, M. Worwood, editors. – London : Academic Press. – 1980, II. – P. 427–459.
13. Wills, E. D. Effects of iron overload on lipid peroxide formation and oxidative demethylation by the liver endoplasmic reticulum / E. D. Wills // Biochem. Pharmacol. – 1972, 21. – P. 239–247.



УДК 619:615.9-07:615.27

Ключевые слова: эмидонол 10 % раствор, токсикологические свойства, кролики, морские свинки

Key words: emidonol 10 % solution, toxicological properties, rabbits, guinea pigs

Кузнецов Ю. Е., Никонова Э. Б., Новиков Д. Д.

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА ЭМИДОНОЛ 10 %**  
**TOXICOLOGICAL PROPERTIES OF THE DRUG EMIDONOL 10 %**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 198280, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5

<sup>1</sup>*Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine*

Address: 198280, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5

<sup>2</sup>ГНУ НИИ Пушного звероводства и кролиководства им. В. А. Афанасьева

Адрес: 140143, Россия, Московская область, Раменский район, пос. Родники, ул. Трудовая-6

<sup>2</sup>*V. A. Afanasyev Institute of Fur Animals and Rabbits*

Address: 140143, Russia, Moscow region, Ramensky district, Rodniki, Trudovaya-6 str.

<sup>3</sup>ООО «НВЦ Агроветзащита»

Адрес: 129329, Россия, Москва, ул. Кольская, 1, стр. 1

<sup>3</sup>*Scientific and Implementation Center "Agrovetzaschita", Ltd.*

Address: 129329, Russia, Moscow, Kolskaya str., 1, bldg. 1

Кузнецов Юрий Евгеньевич, к. в. н., ассистент каф. паразитологи<sup>1</sup>. E-mail: Fish2017@yandex.ru

*Kuznetsov Yuriy E., Ph.D. in Veterinary Science, Assistant of the Dept. of Parasitology<sup>1</sup>. E-mail: Fish2017@yandex.ru*

Никонова Элеонора Борисовна, д. б. н., ст. научн. сотрудник<sup>2</sup>

*Nikonova Eleonora B., Doctor of Biology Science, Senior Research Scientist<sup>2</sup>*

Новиков Денис Дмитриевич, к. в. н., специалист отдела науки<sup>3</sup>

*Novikov Denis D., Ph.D. in Veterinary Science, Specialist of the Dept. of Science<sup>3</sup>*

**Аннотация.** В статье изложены результаты исследований местно-раздражающих и аллергенных свойств препарата антиоксиданта Эмидонол 10 %.

**Summary.** The article presents the results of research on local irritative and allergenic properties of the drug antioxidant Emidonol 10 %.

**Введение**

Широкий спектр фармакологического действия 2-метил-6-метил-3 оксипиридина сукцината подтвержден при лечении животных при токсикозах, стрессовых ситуациях при перевозке и т. д. [5, 7, 8]. У животных, получавших 2-метил-6-метил-3 оксипиридина сукцинат, заметно увеличивался энергетический потенциал, ярко проявлялись породные признаки собак, улучшалась управляемость ими [3, 4].

Фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» разработан и представлен для изучения препарат Эмидонол 10 % в форме раствора для инъекций, который содержит в 1 мл в качестве действующего вещества 2-метил-6-метил-3 оксипиридина сукцинат – 100 мг/мл.

Целью наших исследований явилось изучение местно-раздражающих и аллергенных свойств препарата.

**Материалы и методы**

*Кожно-резорбтивное действие* препарата изучалось в повторном опыте на 20 белых мышах. Животных помещали в специальные домики, а их хвосты на 2/3 длины погружали в пробирки с чистым препаратом. Экспозиция 2 часа на протяжении 14 дней. Контрольные животные находились в тех же условиях, а их хвосты погружались в воду.

При изучении способности препарата проникать через кожу использовались те же показатели, что и в предыдущем опыте.

*Раздражающее и аллергическое действие* препарата изучалось на 5 кроликах породы «Шиншилла», согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», 2007 [6].

В первой серии опыта проведено тестирование препарата в разных концентрациях. Препарат наносился на выстриженные (3×3)

участки боковой поверхности кожи кроликов 5 раз в неделю на протяжении 2 недель. Ежедневная экспозиция – 4 часа, после чего препарат смывали водой. Реакцию кожи оценивали по шкале Суворова [2, 6].

Этот опыт позволяет выявить опасность развития неаллергического контактного дерматита и одновременно подобрать концентрацию, не обладающую раздражающим действием.

Во второй серии препарат в «рабочей» дозе наносился на левый бок кролика, где выстригался участок кожи размером 4×4 см. Экспозиция 4 часа, 5 раз в неделю, на протяжении 20 дней.

Первое тестирование по шкале оценки кожных проб проводилось через 10 дней. При этом выстригали кожу на противоположном боку кролика и наносили препарат в той же дозе. Реакцию кожи анализировали на 24, 48 и 72 часа после смывания продукта. При отрицательном результате опыт продолжили и довели число аппликаций до 20, после чего проводили повторное тестирование.

Для количественной оценки сенсibilизации к препарату использовали иммунологический метод по выявлению реакции клеток крови на аллерген *in vitro* – реакцию дегрануляции тучных клеток (РНДТК) и реакцию гистаминового шока.

Исследование раздражающего действия препарата на слизистые оболочки глаз проводили на кроликах. Препарат в количестве 3 капель вносился в конъюнктивальный мешок правого глаза трем кроликам. Левые глаза кроликов служили контролем. Наблюдение за состоянием животных проводилось в течение 2 недель. Оценку раздражающего действия проводили согласно рекомендаций [6], учитывая изменение кровенаполнения конъюнктивы, состояние роговицы и радужной оболочки, количество выделений из глаз.

## **Результаты и обсуждения исследований**

Результаты исследования раздражающих свойств препарата показали, что нанесение Эмидонола 10 % на кожу в дозах 0,2–0,4 мл/кг ежедневно в течение 15 суток не вызывало у кроликов изменений кожного покрова. Не отмечено покраснения кожи, утолщения кож-

ной складки и выпадения подстриженной шерсти и шерсти, граничащей с выстриженными участками.

При пальпации выстриженных участков кожи не наблюдали болезненной реакции у животных. Данные гематологических показателей свидетельствуют, что нанесение препарата на выстриженные участки кожи кроликов в дозах 0,2 и 0,4 мл в течение 15 суток существенно не изменяли картину крови животных (таблица 1 и 2).

Опыт по изучению раздражающих свойств препарата на слизистые оболочки глаз провели на 5 кроликах.

Раздражающее действие препарата на слизистые оболочки глаз определяли по «глазной пробе» [2, 6]. В конъюнктивальный мешок левого глаза 5 кроликам закапывали 1–2 капли препарата, а в конъюнктивальный мешок правого – 1–2 капли воды. За животными вели наблюдение на протяжении 15 суток. Оценку раздражающего действия проводили через 1, 2, 3, 4 и 24 часа, 3–7 и 15 суток визуально по изменению кровенаполнения конъюнктивы, наличию лакримации и состоянию роговицы по 10 бальной системе согласно таблице 3.

Через 1 час после введения препарата у всех подопытных животных наблюдали слезотечение и выраженную гиперемию конъюнктивы с оценкой 4 балла. Через 2, 3 и 4 часа конъюнктивала оставалась слабовыраженной в той же степени – 4 балла.

Спустя 24 часа у всех кроликов на слизистой глаз имело место наличие лакримации и отека век (раздражающий эффект – умеренный). На 2 сутки отмечали ярко выраженную гиперемию и лакримацию (раздражающий эффект – умеренный). На 4-е сутки признаки раздражения слизистой глаз постепенно исчезали. На 7 сутки видимых изменений на слизистой оболочки глаз не наблюдали. Таким образом было установлено, что испытуемый препарат обладает умеренным раздражающим эффектом на слизистые оболочки глаз в течение первых 2 суток.

*Изучение аллергизирующего действия Эмидонола 10 %*

При введении подопытным животным гистамина наблюдалась следующая реак-

Таблица 1.

**Гематологические показатели кроликов до и после многократного нанесения препарата в дозе 0,2 мл/кг в течение 15 дней (средние данные по 5 животным)**

Сроки наблюдения	Гемоглобин ммоль/л	Эритроциты 10 <sup>12</sup> /л	Лейкоциты 10 <sup>9</sup> /л	СОЭ мм/ч
До опыта	7,2±0,2	3,8±0,3	6,7±0,4	2,0±0,2
1 час	8,8±0,3	4,4±0,1	6,4±0,3	2,8±0,1
1 сутки	6,0±0,5	4,2±0,2	6,8±0,2	3,1±0,3
5 суток	7,4±0,2	4,0±0,3	7,3±0,1	2,8±0,3
10 суток	8,2±0,4	4,3±0,3	6,9±0,3	2,6±0,2

Таблица 2.

**Гематологические показатели кроликов до и после нанесения препарата в дозе 0,4 мл/кг в течение 15 дней (средние данные по 5 животным)**

Сроки наблюдения	Гемоглобин ммоль/л	Эритроциты 10 <sup>12</sup> /л	Лейкоциты 10 <sup>9</sup> /л	СОЭ мм/ч
До опыта	6,4±0,2	5,0±0,3	6,4±0,4	2,2±0,1
1 час	7,5±0,4	4,8±0,2	7,2±0,1	2,8±0,4
1 сутки	8,6±0,3	4,6±0,3	7,4±0,4	3,0±0,2
5 суток	7,0±0,5	5,4±0,5	7,6±0,2	3,4±0,5
10 суток	6,8±0,2	6,1±0,2	7,3±0,3	3,2±0,4

Таблица 3.

**Оценка раздражающего действия на слизистые оболочки глаз**

Интенсивность реакции	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Отсутствие реакции	0	Отсутствует
Слабая реакция	2	Слабый
Выраженная гиперемия	4	Слабо выраженный
Наличие лакримации	6	Умеренный
Наличие выделений	8	Выраженный
Длительная, ярко выраженная гиперемия, лакримация, отек век	10	Сильно выраженный

ция: возбуждение, частая дефекация, мочеиспускание, учащенное дыхание, судороги и смерть. Критерием оценки служило время от момента введения гистамина до момента бокового положения животных. Время наступления гистаминового шока у подопытных и контрольных животных находилось в близких пределах ( $P > 0,05$ ). Не было отмечено укорочения периода наступления гистаминового шока при введении Эмидонола 10 % как в терапевтической, так и в три раза увеличенной терапевтической дозах (табл. 4). Препарат в указанных дозах не потенцировал эффекта гистамина и, следовательно, не проявлял алергизирующих свойств.

У подопытных морских свинок характер протекания гистаминового шока не отличался от такового у контрольных животных.

В своих исследованиях мы применили также тест непрямо́й реакции дегрануляции тучных клеток крыс (РНДТК).

Опыты по изучению алергенных свойств по тесту «непрямо́й реакции дегрануляции тучных клеток» показали, что при подкожном введении препарата в терапевтической и в три раза увеличенной дозах на первые сутки после введения процент дегранулированных клеток не превышал десяти (табл. 5). На 5, 10 и 15 сутки после введения препарата процент дегранулированных клеток находился в пределах

Таблица 4.

Результаты изучения алергизирующей активности препарата Эмидонол 10 %  
(метод гистаминового шока,  $P > 0,05$ )

Доза, мг/кг по ДВ	Время введения гистамина после Эмидонола 10 %, час	Время наступления гистаминового шока, мин.	
		Животные	
		Подопытные $M \pm m$	Контрольные $M \pm m$
20	3,0	20,3 $\pm$ 0,10	20,09 $\pm$ 0,30
60	3,0	20,19 $\pm$ 0,12	20,10 $\pm$ 0,20

Таблица 5.

Результаты изучения аллергенной активности препарата Эмидонол 10 %  
в реакции непрямой дегрануляции тучных клеток

Доза мг/кг по ДВ	Способ введения	Сроки убоя животных, сутки	Процент дегранулированных клеток	Реакция
20	Подкожно	1	9,6 $\pm$ 0,3	(-)
60	Подкожно	1	9,4 $\pm$ 0,4	(-)
20	Подкожно	5	4,8 $\pm$ 0,2	(-)
60	Подкожно	5	3,6 $\pm$ 0,2	(-)
20	Подкожно	10	3,9 $\pm$ 0,12	(-)
60	Подкожно	10	3,0 $\pm$ 0,10	(-)
20	Подкожно	15	3,7 $\pm$ 0,12	(-)
60	Подкожно	15	2,8 $\pm$ 0,3	(-)

4,8 $\pm$ 0,2 – 2,8 $\pm$ 0,30. Таким образом, наибольший процент дегранулированных клеток наблюдался на первые сутки после введения препарата Эмидонол 10 % в дозах 0,2 и 0,6 мл/кг, но и в эти сроки по количеству дегранулированных клеток реакция считается отрицательной.

Таким образом, с использованием двух высокочувствительных тестов для определения алергизирующей активности препарата Эмидонол 10 % – «гистаминового шока» и РНДТК – мы установили, что препарат при подкожном пути введения в терапевтической и в три раза увеличенной дозах не потенцирует влияние гистамина и не вызывает дегрануляции тучных клеток крыс, выходящие за пределы нормы.

### Заключение

Препарат не обладает местно-раздражающими свойствами и не вызывает аллергической реакции у животных в испытанных дозах и будет рекомендован к регистрации.

### Список литературы

1. Антрошенко, О. Н. Поиск фармакологических корректоров работоспособности в постгипоксический период в ряду производных 3-оксипиридина : автореферат дисс. ... канд. мед. наук О. Н. Антрошенко. – М., 1997.
2. Беленький, М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – Изд. 2-е, переработ. и доп. – Л. : Мед. литература, 1963. – С. 152, 81–101.
3. Бурлакова, Е. Б. Свободнорадикальное окисление липидов в норме и патологии / Е. Б. Бурлакова. – М., 1976.
4. Бурлакова, Е. Б. Биоантиоксиданты вчера, сегодня, завтра : Сборник трудов V Международной конференции Биантиоксидант / Е. Б. Бурлакова. – М., 1998.
5. Дюмаев, К. М. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС / К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов. – М., 1995. – 272 С.
6. Хабриев, Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев. – Изд. 2-е. – М., 2007. – С. 41–54.
7. Sherding, R. G. Diseases of the Small Bowel. Textbook of Veterinary Internal Medicine / R. G. Sherding. – 1983.
8. Zubay, G. Biochemistry / G. Zubay. – 3rd ed. – Wm. C. Brown Publishers, 1993. – 1024 p.

УДК 619:615.9:577.118

Ключевые слова: белые крысы, марганец, наноккомпозит металлов, токсикокинетика

Key words: white rats, manganese, metal nanocomposite, toxicokinetics

Куцан А. Т., Оробченко А. Л., Романько М. Е.

**ТОКСИКОКИНЕТИКА МАРГАНЦА В ОРГАНИЗМЕ КРЫС  
ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ НАНОКОМПОЗИТА МЕТАЛЛОВ  
(AG, CU, FE, ДВУОКИСЬ MN) С КОРМОМ  
В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА  
TOXICOKINETICS OF MANGANESE IN RATS  
AFTER ADMINISTRATION OF A METAL NANOCOMPOSITE  
(AG, CU, FE, MN DIOXIDE) WITH FEED IN THE CHRONIC EXPERIMENT**

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» Национальной академии аграрных наук Украины  
Адрес: 61000, Украина, г. Харьков, ул. Пушкинская, 83  
*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"*  
*National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine*  
Address: 61023, Ukraine, Kharkiv, Pushkinskaya Str., 83

Куцан Александр Тихонович, д. в. н., проф., зав. отделом токсикологии, безопасности и качества сельскохозяйственной продукции.  
*Kutsan Aleksandr T., Doctor of Veterinary Medicine, Professor, Head of the Dept. of Toxicology, Safety and Quality of Agricultural Products*  
Оробченко Александр Леонидович, к. в. н., ст. научн. сотрудник лаборатории токсикологического мониторинга  
*Orobchenko Aleksandr L., Ph.D. in Veterinary Science, Senior Researcher of the Laboratory for Toxicological Monitoring*  
Романько Марина Евгеньевна, к. б. н., ст. научн. сотрудник  
*Roman'ko Marina Ye., Ph.D. in Biology Science, Senior Researcher*

**Аннотация.** В статье описаны результаты исследований токсикокинетики марганца в организме крыс при условии хронического эксперимента. При этом наночастицы двуокиси марганца, которые были введены крысам в дозе 0,3 мг / кг массы тела, имели тенденцию к лучшему всасыванию, чем соль металла, что свидетельствует об их лучшей биодоступности. Для наночастиц металла, введенных крысам в дозе 4,0 мг / кг массы тела, имела место материальная кумуляция, тогда как в биотической дозе преобладала функциональная. Введение крысам макродисперсной формы металла в дозе 0,3 мг / кг массы тела приводит к повышению экскреции марганца почками, тогда как введения наночастиц в обеих дозах приводит к снижению экскреции элемента или незначительному ее повышению, что может свидетельствовать о более длительном удержании металла в организме крыс. Также в метаболизме, экскреции и биотрансформации наномарганца активное участие принимают легкие и кожа с шерстью. О большей активности наночастиц в сравнении с солью металла свидетельствует накопление металлов в семенниках крыс

**Summary.** This article describes the results of studies of manganese toxicokinetics in rats subject to chronic experiment. Thus manganese dioxide nanoparticles which were administered to rats at a dose of 0.3 mg / kg body weight tended to better absorption than a metal salt, indicating their better bioavailability. For metal nanoparticle administered to rats at a dose of 4.0 mg / kg of body weight material accumulation occurred, whereas at a biotic dose functional accumulation predominated.

Administration of macro disperse metal form to rats at a dose 0.3 mg / kg body weight results in increased excretion of manganese by kidneys, whereas administration of nano forms in both doses reduces excretion of an element or its slight increase, which may indicate a longer retention of the metal in rat organism. Also in metabolism, excretion and biotransformation of nano manganese the lungs and skin with fur are actively involved. Accumulation of metals in the testes of rats shows a greater activity of nanoparticles as compared with metal salt.

**Введение**

Марганец является одним из важнейших микроэлементов для живого организма [5]. При дефиците марганца у животных от-

мечаются снижение интенсивности роста, аномальное развитие скелета, нарушение воспроизводительной функции, врожденная атаксия и отклонения в количестве органелл

в клетке [1, 4]. Основной причиной, которая приводит к возникновению дефицитных состояний, является низкая доступность микроэлемента из кормов и минеральных добавок [6], поэтому сегодня ведутся поиски доступной и безопасной формы марганца. Особое внимание уделяется металлу в нанодисперсной форме, а именно: изучению биодоступности и безопасности наночастиц марганца, что уже было частично показано в нашей предыдущей работе [2]. Целью данной работы было изучить токсикокинетику марганца у белых крыс после введения наноконкомпозита металлов (Ag, Cu, Fe, двуокись Mn) в условиях хронического эксперимента.

## Материалы и методы

Опыт был проведен в условиях вивария ННЦ «ИЭКВМ» на половозрелых крысах-самцах (n=80) линии *Vistar* массой 120–140 г. По принципу аналогов было сформировано 4 группы животных по 20 крыс в каждой (n=20).

Экспериментальные исследования на животных были проведены с учетом основных принципов биоэтики, норм содержания, ухода и кормления.

Композиционная смесь из наночастиц металлов была составлена на основании полученных нами результатов исследования биобезопасности, а именно: генотоксичности, мутагенности и общей токсичности при условиях *in vitro*. Опытный образец наноконкомпозита металлов (НкМе) содержал наночастицы серебра (31,5±0,9 нм), железа (100,0±10,0 нм), меди (38,0±4,0 нм) и дву-

киси марганца (27,0±3,0 нм) в аликвотном соотношении с конечной концентрацией 100 мкг/см<sup>3</sup> по каждому металлу. Концентрация соответствующих металлов в ионной форме в растворе смеси солей – AgNO<sub>3</sub>, CuSO<sub>4</sub> • 5H<sub>2</sub>O, MnSO<sub>4</sub> • 5H<sub>2</sub>O и FeSO<sub>4</sub> • 7H<sub>2</sub>O – соответствовала 100 мкг/см<sup>3</sup> по металлу.

Исследования на животных проводили согласно схемы (табл. 1).

Животным I и II опытных групп на протяжении 90 суток вводили как добавки к корму растворы НкМе и смеси солей соответствующих металлов в биотической дозе (0,3 мг/кг массы тела), а животным III опытной группы – дозу НкМе, превышающую биотическую – 4,0 мг/кг массы тела. Животные контрольной группы получали физиологический раствор натрия хлорида из расчета 2,0 см<sup>3</sup>/крысу.

В течение опыта проводили наблюдение за клиническим состоянием и поведением экспериментальных животных. Для определения токсикокинетики (распределения, накопления и элиминации марганца) через 15, 30, 60 и 90 суток после начала опыта проводили декапитацию 5 животных из группы в условиях легкого хлороформного наркоза и отбирали образцы таких органов и тканей: желудка, тонкого и толстого кишечника с содержимым, крови, печени, селезенки, почек, головного мозга, сердца, легких, семенников, мышц, шерсти с кожей (перед исследованием вымытые и высушенные). Содержание марганца в биологическом материале определяли методом рентгенфлуоресцентного анализа согласно методическим рекомендациям [3]. Результаты исследований статистически об-

Таблица 1.

Схема хронического токсикологического эксперимента на белых крысах линии Вистар (n=80)

Группы		Доза на кг массы тела, см <sup>3</sup> /кг	Сроки исследования, сутки			
			15	30	60	90
		Количество животных для исследования				
Контроль (n=20)		Физиологический раствор NaCl, 2,0 см <sup>3</sup> на животное	5	5	5	5
Опытные	I (n=20)	Смесь солей Me, 0,3 см <sup>3</sup> /кг массы тела	5	5	5	5
	II (n=20)	НкМе, 0,3 см <sup>3</sup> /кг массы тела	5	5	5	5
	III (n=20)	НкМе, 4,0 см <sup>3</sup> /кг массы тела	5	5	5	5

рабатывали с использованием пакета программ Microsoft Excel 2003 (для Windows XP), достоверность полученных результатов оценивали по критерию Стьюдента.

### Результаты исследований

Клинические наблюдения за крысами на протяжении 90 суток показали, что общее состояние организма животных как контрольной, так и опытных (I–III) групп было удовлетворительным: крысы были подвижные, адекватно реагировали на внешние раздражители. Гибели животных за весь период наблюдения не зафиксировано. Результаты исследования токсикокинетики марганца в организме крыс представлены в таблицах 2–5.

В желудках крыс только II и III опытных групп, получавших НкМе, на 15 суток эксперимента содержание марганца превышало контрольные значения ( $P < 0,001$ ) на 72,1 и 68,2 % соответственно. На 30 суток опыта в желудках крыс этих опытных групп (НкМе) регистрировали снижение содержания марганца на 23,7 и 14,3 % ( $P < 0,05$ ). На 60 и 90 суток эксперимента наблюдали одинаковую картину динамики марганца в желудках крыс II и III опытных групп: увеличение уровня на 81,3 и 81,5 % и на 85,8 и 89,1 % соответственно ( $P < 0,001$ ). Полученные данные свидетельствуют о том, что наночастицы марганца способны дольше, чем соответствующая ионная их форма задерживаться в желудке крыс. На протяжении всего эксперимента не было установлено достоверных изменений уровня элемента в желудках крыс, получавших смесь солей металлов (I группа), в сравнении с контрольным.

В тонком кишечнике крыс II опытной группы на первом сроке исследований было отмечено превышение содержания элемента на 43,4 %, тогда как в I опытной группе – снижение на 29,1 % ( $P < 0,05$ ) относительно контрольных значений. На 30 суток эксперимента достоверных отклонений значений марганца в тонком кишечнике крыс опытных групп установлено не было. На 60 суток опыта у крыс II опытной группы было установлено значительное увеличение содержания марганца – на 55,3 %, а III опытной группы – на 16,4 % ( $P < 0,001$ ) по отношению к кон-

трольным значениям. На последнем сроке исследований содержание марганца в тонком кишечнике крыс I и III опытных групп было достоверно сниженным относительно контроля – на 73,3 и 61,7 % соответственно.

При исследовании содержания марганца в толстом кишечнике крыс II опытной группы установлено его достоверное снижение на 15 и 60 суток на 17,4 и 17,6 % и увеличение на 30 и 90 суток опыта – на 30,5 и 28,2 % относительно контроля. В I опытной группе крыс, получавших соли металлов, установлено достоверное увеличение марганца на 31,6 % лишь на 30 суток эксперимента, чего не регистрировали на последних сроках исследований. В толстом кишечнике крыс III опытной группы, получавших НкМе в дозе 4,0 мг/кг массы тела, на 15, 30 и 60 суток эксперимента было выявлено достоверное повышение содержания марганца на 20,8, 13,2 и 16,2 %, а на 90 суток – его снижение на 8,5 % ( $P < 0,05$ ) соответственно.

В плазме крови крыс на 15 суток эксперимента содержание элемента у крыс I, II и III опытных групп достоверно превышало контрольное в среднем на 26,7, 35,3 и 21,4 % соответственно. На 30 суток опыта уровень марганца в плазме крови крыс, получавших смесь солей металлов, достоверно не отличался от контрольного, тогда как у крыс, получавших НкМе в дозе 0,3 мг/кг массы тела, снижался на 31,6 % ( $P < 0,05$ ), а в дозе 4,0 мг/кг массы тела – наблюдали только тенденцию к снижению. На 60 суток эксперимента динамика содержания марганца в плазме крови крыс была как на 15 суток: превышение контрольного уровня в I группе составляло 38,7; II – 60,4 и III – 99,7 % соответственно. На последнем сроке исследования у крыс II и III опытных групп содержание металла было достоверно выше его контрольного уровня на 29,6 и 24,0 % соответственно.

В печени крыс I и II опытных групп на 15 суток эксперимента содержание марганца увеличивалось на 22,3 и 10,6 % соответственно, тогда как у крыс III опытной группы – снижалось на 17,1 % ( $P < 0,05$ ). На 30 и 60 суток опыта показатели содержания марганца в печени крыс I, II и III опытных групп были достоверно ниже, чем в контроле:

на 34,1, 29,6 и 32,6 % и на 60 сутки – 28,0 (I группа) и 59,5 % (II группа) соответственно. На 90 сутки превышение содержания марганца на 29,1 % относительно контроля регистрировали лишь в печени крыс III опытной группы ( $P < 0,05$ ).

В селезенке крыс наблюдали следующую динамику содержания марганца: на 15 и 30 сутки эксперимента достоверное снижение у животных III опытной группы составляло 48,3 и 84,4 %, но уже на 60 сутки – превышало контрольные значения на 27,0 % ( $P < 0,05$ ). Содержание марганца увеличивалось в селезенке крыс I опытной группы на протяжении всего опыта таким образом, что на 90 день стало достоверным и составило 32,8 %.

Иначе выглядела динамика содержания марганца в селезенке крыс II опытной группы: на 15 сутки опыта было установлено его увеличение на 19,6 % ( $P < 0,05$ ), на 30 сутки – снижение на 38,8 % ( $P < 0,05$ ), а на 60 и 90 сутки – только динамика к повышению содержания.

Значительные колебания содержания марганца наблюдали в сердце крыс. На 15 сутки исследования содержание марганца в сердце крыс III опытной группы превышало контрольные значения на 21,4 %, а в остальных группах имело лишь тенденцию к увеличению. На 30 сутки эксперимента в сердце крыс I опытной группы отмечали динамику к повышению, у животных III – к снижению, а II – достоверное снижение на 60,0 %. На 60 сутки опыта в сердце крыс I опытной группы регистрировали достоверное снижение содержания марганца на 27,3 %, а у крыс III опытной группы – повышение на 30,0 % ( $P < 0,001$ ) относительно контроля. На 90 сутки эксперимента в сердце крыс I опытной группы регистрировали достоверное снижение содержания элемента на 25,0 %, а во II – повышение на 33,3 % ( $P < 0,001$ ).

Динамика содержания марганца в головном мозге крыс была аналогичной таковой в сердце, селезенке и толстом отделе кишечника. Так, на 15 и 30 сутки опыта содержание элемента в головном мозге крыс II и III опытных групп, получавших НкМе, достоверно снижалось относительно контроля на 109,1 и 54,5 % и на 53,3 и 51,1 % соответственно. На 60 и 90

сутки эксперимента достоверных отклонений содержания марганца не выявлено.

Установлено достоверное увеличение содержания марганца в мышцах крыс II и III опытных групп на 15 сутки опыта на 36,6 и 48,6 %, а на 30 сутки – снижение на 66,6 и 40,6 % соответственно ( $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$ ), тогда как в I группе отклонений на обоих сроках исследований не выявляли. На 60 сутки наблюдали похожую картину, как и на 15 сутки: в мышцах крыс II и III опытных групп было достоверное увеличение содержания марганца на 48,6 и 56,1 % ( $P < 0,001$ ), а в I опытной группе не отмечали значительных изменений. На последнем сроке исследований достоверных изменений во всех опытных группах не установлено.

В легких крыс I группы, получавших смесь солей металлов, на 15 сутки исследования установлена только тенденция к увеличению содержания марганца, на 30 сутки – к снижению, а на 60 сутки – к превышению контрольного уровня на 65,2 % ( $P < 0,001$ ).

В легких крыс II опытной группы, получавших НкМе в дозе 0,3 мг/кг массы тела, на 15, 60 и 90 сутки значения содержания марганца приближались к контрольным показателям, а на 30 сутки превышали его на 56 % соответственно ( $P < 0,05$ ).

В легких крыс III опытной группы, получавших НкМе в дозе 4,0 мг/кг массы тела, уровень марганца достоверно снижался на 15 сутки опыта на 100 %, тогда как на 30 и 60 – увеличивался на 56,0 и 40,7 % и имел тенденцию к повышению на 90 сутки исследований.

В почках крыс II и III опытных групп, получавших НкМе, на 15 сутки опыта установлено достоверное снижение содержания марганца на 132,2 и 80,3 % соответственно. На 30 сутки опыта в почках крыс этих групп наблюдали динамику к увеличению содержания марганца, тогда как у крыс I группы, получавших смесь солей металлов, его содержание превышало контроль на 46,2 %. На 60 сутки эксперимента только в почках крыс III опытной группы содержание марганца не отличалось от контрольного показателя, а в I и II – достоверно снижалось на 82,9 и 20,8 % соответственно. На 90 сутки опыта содержание

Таблица 2.

Содержание марганца в органах и тканях крыс, которые получали разные дозы НкМе и смесь солей металлов, на 15 сутки опыта, мг/кг ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Группы Орган, ткань	Контроль	I опытная (смесь солей Me, 0,3 мг/кг массы тела)	II опытная (НкМе, 0,3 мг/кг массы тела)	III опытная (НкМе, 4,0 мг/кг массы тела)
Желудок	1,29±0,06	1,56±0,12	4,63±0,11***	4,06±0,01***
Тонкий кишечник	2,93±0,02	2,27±0,09*	5,18±0,14***	2,83±0,07
Толстый кишечник	23,87±0,51	23,27±0,34	20,34±0,23**	30,13±0,12***
Плазма, мг/дм <sup>3</sup>	0,11±0,00	0,15±0,01*	0,17±0,01**	0,14±0,00**
Печень	1,78±0,09	2,29±0,04**	1,99±0,04*	1,52±0,01*
Селезенка	0,86±0,04	0,96±0,07	1,07±0,03*	0,58±0,04**
Сердце	0,22±0,01	0,23±0,02	0,24±0,01	0,28±0,01*
Головной мозг	0,46±0,02	0,50±0,03	0,22±0,00***	0,30±0,02**
Мышцы	0,19±0,03	0,16±0,02	0,30±0,01*	0,37±0,01**
Легкие	0,06±0,00	0,08±0,01	0,08±0,01	0,03±0,00***
Почки	1,37±0,06	1,31±0,06	0,59±0,02***	0,76±0,10**
Шерсть, кожа	0,21±0,01	0,25±0,00*	0,37±0,01***	0,31±0,01**
Семенники	0,17±0,00	0,27±0,01**	0,20±0,01**	0,26±0,03**

Примечание: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$  относительно контроля.

элемента в почках крыс II опытной группы превышало контроль на 25,9 % ( $P < 0,01$ ), а в I и III – значительно не отличалось от контроля.

Содержание марганца в коже с шерстью крыс всех опытных групп достоверно превышало контроль на протяжении всего опыта. Так, в I опытной группе (смесь солей металлов) увеличение составляло на 15 сутки 16,0 %, на 30 – 42,8 %, на 60 – 67,6 % и на 90 – 33,3 % соответственно. Во II опытной группе (НкМе в биотической дозе) превышение на 15 сутки составляло 43,2 %, на 30 – 63,6 %, на 60 – 64,7 % и на 90 – 62,5 % соответственно. В III опытной группе (НкМе в условно-токсичной дозе) превышение составляло на 15 сутки – 32,3 %, на 30 – 82,9 %, на 60 – 64,7 % и на 90 – 62,5 % соответственно.

Содержание марганца в семенниках крыс I опытной группы было выше контрольных значений на протяжении всего эксперимента, а достоверным его регистрировали на 15, 30 и 60 сутки в среднем на 37,0, 23,3 и 47,8 % соответственно. В семенниках крыс II опытной группы содержание элемента на 15 сутки было достоверно снижено на 15,0 %, тогда как на 30 и 60 сутки – увеличено на 23,3 и 67,7 % относительно контрольного показателя.

В семенниках крыс III опытной группы увеличение уровня марганца наблюдали на 15 и 60 сутки опыта в среднем на 34,6 и 64,7 % ( $P < 0,01$ ), тогда как на 30 и 90 сутки достоверных различий не определяли.

### Обсуждение результатов

Анализ результатов влияния НкМе и смеси солей соответствующих металлов на желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) крыс позволяет утверждать, что при сравнении марганца в макро- и нанодисперсной формах (0,3 мг/кг массы тела) наночастицы элемента лучше всасываются, чем его ионная форма (соль металла), что подтверждается увеличением его содержания в желудке и тонком кишечнике на фоне снижения накопления в толстом кишечнике на 15 и 60 сутки введения. Следует заметить, что по результатам токсикокинетики марганца не прослеживается дозозависимый эффект между группами крыс, получавшими НкМе, что может указывать на активное всасывание наночастиц во всех отделах ЖКТ, а особенно в желудке. При этом нельзя пренебрегать особенностями влияния наночастиц элемента в разных дозах на перистальтику ЖКТ, что характеризуется обратнопропорциональным характером его

накопления в желудке и толстом кишечнике крыс, получавшим НкМе в биотической (II группа) и условно-токсичной (III группа) дозе. Значительное содержание марганца в толстом кишечнике крыс, получавшим НкМе в дозе 4,0 мг/кг массы тела, с 15 до 60 суток свидетельствует об интенсивном выведении

элемента из организма животных. Аналогичный эффект прослеживался и для крыс, получавших НкМе в дозе 0,3 мг/кг массы тела, но только на 90 сутки опыта, что также указывает на интенсивную элиминацию металла в такой форме из организма и снижение эффективности препарата. Учитывая данный

**Таблица 3.**

**Содержание марганца в органах и тканях крыс, которые получали разные дозы НкМе и смесь солей металлов, на 30 сутки опыта, мг/кг ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Группы Орган, ткань	Контроль	I опытная (смесь солей Me, 0,3 мг/кг массы тела)	II опытная (НкМе, 0,3 мг/кг массы тела)	III опытная (НкМе, 4,0 мг/кг массы тела)
Желудок	7,66±0,22	7,57±0,15	6,19±0,08**	6,70±0,22*
Тонкий кишечник	3,97±0,10	3,99±0,03	3,99±0,04	3,73±0,09
Толстый кишечник	23,64±0,32	34,56±1,00***	34,01±0,24***	27,24±0,43**
Плазма, мг/дм <sup>3</sup>	0,25±0,02	0,25±0,02	0,19±0,01*	0,22±0,02
Печень	2,36±0,01	1,76±0,13*	1,82±0,16*	1,78±0,18*
Селезенка	1,18±0,08	1,30±0,27	0,85±0,05*	0,64±0,03**
Сердце	0,32±0,00	0,34±0,02	0,2±0,02**	0,28±0,02
Головной мозг	0,68±0,04	0,61±0,04	0,44±0,02**	0,45±0,01**
Мышцы	0,45±0,01	0,52±0,02	0,27±0,02**	0,32±0,03*
Легкие	0,11±0,03	0,09±0,00	0,25±0,02*	0,25±0,02*
Почки	0,49±0,05	0,91±0,05**	0,55±0,06	0,59±0,01
Шерсть, кожа	0,12±0,00	0,21±0,01***	0,33±0,01***	0,70±0,03***
Семенники	0,23±0,01	0,30±0,02*	0,30±0,01**	0,23±0,03

Примечание: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$  относительно контроля.

**Таблица 4.**

**Содержание марганца в органах и тканях крыс, которые получали разные дозы НкМе и смесь солей металлов, на 60 сутки опыта, мг/кг ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Группы Орган, ткань	Контроль	I опытная (смесь солей Me, 0,3 мг/кг массы тела)	II опытная (НкМе, 0,3 мг/кг массы тела)	III опытная (НкМе, 4,0 мг/кг массы тела)
Желудок	1,53±0,09	1,43±0,03	8,18±0,42***	8,25±0,24***
Тонкий кишечник	3,72±0,15	3,42±0,09	8,32±0,30***	4,45±0,10*
Толстый кишечник	24,71±0,31	24,45±0,76	21,02±0,82*	29,47±0,69**
Плазма, мг/дм <sup>3</sup>	0,19±0,02	0,31±0,01**	0,48±0,05**	0,60±0,02***
Печень	3,11±0,09	2,43±0,05**	1,95±0,03***	2,91±0,10
Селезенка	0,65±0,04	0,79±0,04	0,81±0,05	0,89±0,05*
Сердце	0,14±0,00	0,11±0,02**	0,13±0,01	0,20±0,01***
Головной мозг	0,32±0,03	0,30±0,01	0,32±0,03	0,35±0,03
Мышцы	0,18±0,02	0,19±0,01	0,35±0,02*	0,41±0,03***
Легкие	0,16±0,02	0,46±0,03***	0,14±0,03	0,27±0,02*
Почки	0,64±0,02	0,35±0,01***	0,53±0,02*	0,62±0,07
Шерсть, кожа	0,11±0,00	0,34±0,01***	0,26±0,01***	0,16±0,00***
Семенники	0,12±0,01	0,23±0,00***	0,34±0,01***	0,34±0,02***

Примечание: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$  относительно контроля.

факт можно предположить, что оптимальный срок применения НкМе в биотической дозе – 60 суток.

Из ЖКТ происходит поступление элемента в кровь, что имеет дозозависимый характер и может подтвердить мысль о всасывании наночастиц во всех его отделах. К тому же у крыс, получавших биотическую дозу НкМе, содержание марганца увеличивалось по сравнению с животными, получавшими элемент в макродисперсной форме, что свидетельствует о более высокой биодоступности наночастиц металла.

Полученные данные содержания микроэлемента в печени опытных крыс свидетельствуют о том, что для наночастиц марганца в биотической дозе преобладает «функциональная» кумуляция, на что указывает снижение уровня марганца у животных на протяжении опыта в сравнении с контролем и влиянием макродисперсной формы металла. Для наночастиц металла, введенного в условно-токсичной дозе, преобладает «материальная» кумуляция, о чем свидетельствует увеличение содержания марганца с 60 по 90 сутки в сравнении с контролем и влиянием макродисперсной формы.

По содержанию марганца в селезенке опытных крыс можно сказать, что введение

биотической дозы НкМе приводит к стабилизации содержания элемента в данном органе в сравнении с влиянием его макродисперсной формы.

Характер токсикокинетики элемента в сердце опытных крыс, получавших макро- и нанодисперсную форму марганца, свидетельствует о разных механизмах включения металла в разных размерных формах в сердечную ткань.

О пониженной доступности марганца, введенного в составе НкМе, в ткани головного мозга свидетельствует содержание элемента в данном органе.

В мышцах опытных крыс, которым вводили марганец в нанодисперсной форме, имеет место стабильное дозозависимое накопление металла до 60 суток, тогда как при введении макродисперсной формы – увеличение его содержания наблюдается только на 30 сутки.

О возможной элиминации марганца легкими свидетельствует значительное накопление его содержания у крыс III группы особенно на 60 и 90 сутки опыта. Можно предположить, что в легких накапливаются собственно наночастицы двуокиси марганца, которые, обладая высокой активностью,

Таблица 5.

**Содержание марганца в органах и тканях крыс, которые получали разные дозы НкМе и смесь солей металлов, на 90 сутки опыта, мг/кг (M±m, n=5)**

Группы Орган, ткань	Контроль	I опытная (смесь солей Me, 0,3 мг/кг массы тела)	II опытная (НкМе, 0,3 мг/кг массы тела)	III опытная (НкМе, 4,0 мг/кг массы тела)
Желудок	0,72±0,06	0,75±0,01	5,06±0,23***	6,61±0,05***
Тонкий кишечник	3,12±0,08	1,80±0,21**	3,14±0,06	1,93±0,02***
Толстый кишечник	24,25±0,11	25,15±0,39	33,77±0,53***	22,34±0,07***
Плазма, мг/дм <sup>3</sup>	0,19±0,01	0,22±0,01	0,27±0,02*	0,25±0,01*
Печень	2,39±0,12	2,75±0,18	2,54±0,11	3,37±0,28*
Селезенка	0,78±0,03	1,16±0,10*	0,83±0,06	0,81±0,12
Сердце	0,20±0,01	0,16±0,01*	0,30±0,00***	0,20±0,01
Головной мозг	0,39±0,03	0,42±0,02	0,35±0,02	0,42±0,02
Мышцы	0,23±0,01	0,24±0,03	0,21±0,01	0,20±0,02
Легкие	0,16±0,01	0,15±0,02	0,15±0,02	0,19±0,01
Почки	0,63±0,04	0,66±0,03	0,85±0,02**	0,59±0,13
Шерсть, кожа	0,12±0,01	0,18±0,00***	0,27±0,01***	0,32±0,02***
Семенники	0,23±0,01	0,25±0,01	0,21±0,01	0,23±0,01

Примечание: \* – P < 0,05; \*\* – P < 0,01; \*\*\* – P < 0,001 относительно контроля.

могут быть медиаторами развития воспалительного процесса в легких, что мы зафиксировали у крыс вследствие влияния НкМе в условно-токсичной дозе на 90 сутки эксперимента.

Введение крысам марганца в составе макродисперсной формы приводит к увеличению экскреции элемента почками особенно на 15 и 30 сутки, о чем свидетельствует значительное содержание металла на данных сроках исследований. Тогда как введение микроэлемента в наноформе в обеих дозах приводит к снижению экскреции или незначительному ее усилению, что может указывать на более длительное удержание элемента в организме крыс или других путях его элиминации (легкие, кожа, ЖКТ).

В коже с шерстью опытных крыс наблюдаются процессы накопления марганца, причем более выраженные у животных, получавших НкМе, что свидетельствует о большей активности наночастиц металлов и значительной роли в их депонировании и метаболизме кожи и шерсти.

Значительное накопление металла наблюдается в семенниках крыс, получавших НкМе в биотической дозе, в сравнении с влиянием макродисперсной формы элемента, что также указывает на большую активность наночастиц и возможное их влияние на половую систему крыс.

## Выводы

1. Исследованиями токсикокинетики марганца в организме крыс в условиях хронического эксперимента установлено более активное всасывание наночастиц двуокиси марганца (0,3 мг/кг массы тела) во всех отделах ЖКТ и влияние на его перистальтику, по сравнению с влиянием металла в составе макродисперсной формы, что указывает на высокий уровень биодоступности наночастиц.

2. Для наночастиц металла в условно-токсичной дозе преобладает «материальная», тогда как в биотической дозе – «функциональная» кумуляция в сравнении с контролем и влиянием макродисперсной формы, что подтверждается отсутствием четкой динамики к накоплению марганца в селезенке, сердце, головном мозге и мышцах, хотя вы-

явлена определенная «тропность» элемента к сердечной и мышечной тканям, связанная с физиологической необходимостью при их функционировании.

3. Введение крысам металла в макродисперсной форме приводит к усилению экскреции марганца почками на 15 и 30 сутки, тогда как при введении его наноформ в обеих дозах – к снижению таковой, что свидетельствует о метаболизме, более длительной экскреции и биотрансформации нанометалла в организме крыс и коррелирует с результатами токсикокинетики элемента в легких, коже с шерстью и семенниках крыс.

4. Полученные результаты являются предпосылкой для изучения влияния данных наночастиц на организм продуктивных животных, а знания относительно их токсикокинетики могут быть базовыми для до- и клинического тестирования наноматериалов как субстанций ветеринарных препаратов и кормовых добавок.

## Список литературы

1. Гиоргиевский, В. И. Минеральное питание животных / В. И. Гиоргиевский, Б. Н. Анненков, В. Т. Самохин. – М. : Колос, 1979. – 471 с.
2. Куцан, А. Т. Токсикокинетика марганца в организме крыс после внутрижелудочного введения нанокompозита металлов (Ag, Cu, Fe, двуокись Mn) в условиях острого эксперимента / А. Т. Куцан, А. Л. Оробченко, М. Е. Романько // Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». – Воронеж : Истоки, 2013. – С. 372–375.
3. Малинін, О. О. Визначення неорганічних елементів у біологічних субстратах методом рентген-флуоресцентного аналізу (метод. вказівки) / О. О. Малинін, О. Т. Куцан, Г. М. Шевцова, С. П. Долецький, М. В. Літарова, Ф. К. Пузанов / затв. Держ. ком. вет. медицини України 23–24.12.2009 р., протокол № 1.
4. Anke, M. Manganese deficiency in ruminants. 3. Reproductive, skeletal and nervous disorders in female ruminants and their offsprings caused by manganese deficiency / M. Anke [et al] // Arch Tierernahr. – 1973, Apr; 23 (3). – P. 197–211.
5. Mineral tolerance of animals / Committee on Minerals and Toxic Substances, Board on Agriculture and Natural Resources, Division on Earth and Life Studies. – 2nd Revised Edition, 2005. – 500 p.
6. Spears, J. W. Trace mineral bioavailability in ruminants / J. W. Spears // J. Nutr. – 2003, May; 133 (5 Suppl. 1). – P. 1506–1509.

УДК 619.611:637.5.639

Ключевые слова: радужная форель, пробиотик, токсикоз, бактериальная инфекция, установка с замкнутым циклом водоснабжения

*Key words: rainbow trout, probiotic, toxicosis, bacterial infection, recirculating aquaculture system*

Нечаева Т. А.

**ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКА ВЕТОМ 1.1 ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МОЛОДИ  
ФОРЕЛИ В УСТАНОВКАХ С ЗАМКНУТЫМ ЦИКЛОМ ВОДОСНАБЖЕНИЯ (УЗВ)**  
*THE USE OF PROBIOTIC VETOM 1.1 FOR GROWING YOUNG FISH TROUT  
IN RECIRCULATING AQUACULTURE SYSTEM*

ГБУ Республики Карелия «Республиканская ветеринарная лаборатория»  
Адрес: 185013, Республика Карелия, г. Петрозаводск, Шуйское шоссе, 26  
*State-Financed Institution of the Republic of Karelia "Republican Veterinary Laboratory"*  
*Address: 185013, Republic of Karelia, Petrozavodsk, Shuiskoje chaussee, 26*

Нечаева Тамара Алексеевна, к. б. н, ихтиопатолог  
*Nechaeva Tamara A., Ph.D. in Biology Science, ichthyopathologist*

**Аннотация.** В статье представлены исследования по применению пробиотика Ветом 1.1 для снижения заболеваемости и улучшения физиологического состояния молоди форели при выращивании в установках с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ). Рыбы перенесли токсическое воздействие, на фоне которого наблюдали клинические признаки бактериального холодноводного заболевания. Введение пробиотика Ветом 1.1 позволило снизить гибель рыб, нормализовать их физиологическое состояние и активизировать регенерационные процессы. Это позволяет рекомендовать использование Ветом 1.1 для улучшения эпизоотического и физиологического состояния форели при обострении бактериальной инфекции, развивающейся на фоне токсического поражения.

**Summary.** *The article presents the research on application of the probiotic Vetom 1.1 to reduce morbidity and to improve physical condition of juvenile trout growing in recirculating fish farming system. The fish survived toxic effect associated with clinical signs of bacterial cold-water disease. Introduction of the probiotic Vetom 1.1 allowed to reduce fish mortality, normalize their physiological condition and activate regeneration processes. It allows to recommend the use of Vetom 1.1 to improve the epizootic and physiological state of trout with acute bacterial infection developing on the background of toxic damage.*

**Введение**

Выращивание рыбы в установках с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ) является одной из наиболее перспективных технологий аквакультуры. С ростом индустриализации в форелеводстве особенно актуальным становится использование УЗВ для выращивания молоди форели.

Это позволяет в хозяйствах-репродукторах в короткие сроки получить рыбу с необходимой навеской для последующей ее реализации в выростные хозяйства, а также сократить сроки выращивания племенной молоди. УЗВ дают возможность более экономично использовать водные ресурсы предприятия, а также применять подогрев воды. При этом моноциклическая технологическая схема получения молоди заменяется полициклической, что способствует многократному увеличению производства посадочного материала. В результате предприятие может по-

лучить большие объемы продукции за сравнительно короткий промежуток времени.

В то же время возрастает риск бактериальных заболеваний и токсикозов, особенно в первые годы эксплуатации УЗВ. В условиях замкнутой системы количество всех групп микроорганизмов, как правило, возрастает на несколько порядков по сравнению с содержанием их в естественных водоемах [2]. При попадании в установку с рециркулируемой водой рыбы, обсемененной условно-патогенными микроорганизмами, уровень накопления бактериального агента быстро возрастает и включается механизм водной передачи его здоровым особям. В условиях тесного контакта скорость передачи потенциального возбудителя очень высока [5, 6].

Использование антибиотиков в таких системах ограничено из-за возможного негативного воздействия на микрофлору биофильтров УЗВ.

Таким образом, возникает необходимость в препаратах, которые, способствуя поддержанию оптимального физиологического состояния рыб, были бы безвредны для микробиоценоза биофильтра. Пробиотики удовлетворяют этим требованиям благодаря своей способности подавлять рост и развитие патогенной и условно-патогенной микрофлоры, повышать обменные процессы и защитные реакции организма, активизируя клеточный и гуморальный иммунитет.

К группе пробиотиков относятся препараты серии Ветом, созданные на основе спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*. За последнее время накоплен некоторый положительный опыт использования в рыбоводстве препарата Ветом 1.1. Было отмечено стабильное улучшение эпизоотического и физиологического состояния рыб после перенесенного стресса, токсикоза, при хроническом течении бактериальной инфекции (миксобактериоз). Во всех случаях отмечено ускорение регенерационных процессов и улучшение состояния крови при использовании препарата Ветом 1.1 [8].

Целью нашей работы являлось дальнейшее изучение препаратов серии Ветом на физиологическое и эпизоотическое состояние рыб при выращивании в УЗВ.

## Материал и методы исследования

Исследовательская работа была проведена на базе ФГУП Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства (ФГУП ФСГЦР), Ленинградская область.

Молодь радужной форели с навеской от 4,3 до 15,3 г, содержащаяся в УЗВ, регулярно подвергалась ихтиопатологическому обследованию.

Температура воды за период наблюдения составляла от 18 до 12 °С.

Ихтиопатологическое обследование проводили по методике Быховской-Павловской [1]. Микробиологические исследования были проведены в Ленинградской межобластной ветеринарной лаборатории (Санкт-Петербург). Диагностирование миксобактериоза в полевых условиях проводили по экспресс-методу Льюмсен [10].

О физиологическом состоянии рыб судили по состоянию форменных элементов крови. Окраска мазков крови проведена по методу Романовского.

Гидрохимические исследования проведены в лаборатории экологической токсикологии ГосНИОРХ. Температура воды в период выращивания рыбы изменялась от 9–18 °С.

Подопытная и контрольная группы были сформированы из сеголетков племенной радужной форели, содержащихся в бассейнах УЗВ. Средняя навеска рыб в подопытной группе в начале опыта составляла 4,9 г, численность рыб в группе была 22 968 шт. Средняя навеска рыб в контрольной группе в начале опыта составляла 4,3 г, численность рыб в группе была 24 486 шт.

Рыбы перенесли токсическое воздействие, на фоне которого наблюдали клинические признаки бактериального холодноводного заболевания. Наблюдения за рыбами подопытной и контрольной групп были начаты при первых признаках токсикоза за 12 дней до начала опыта.

Ведение препарата Ветом 1.1 сеголеткам форели подопытной группы проводили в течение 10 дней в профилактической дозировке 50 мг/кг корма с добавлением аскорбиновой кислоты (1,5 г/кг корма). Курс лечебно-профилактического кормления был проведен в течение 10 дней.

В контрольной группе рыбам в течение 10 дней в корм вводили только аскорбиновую кислоту (1,5 г/кг корма), что является стандартным методом профилактики при стрессовой ситуации, применяемым в рыбоводстве. Курс лечебно-профилактического кормления был проведен в течение 10 дней.

Антибиотики не применяли.

## Результаты исследования

За 12 дней до начала лечебно-профилактического кормления нами было отмечено повышение отхода у сеголеток форели, содержащихся в УЗВ.

В предшествующий период у рыб контрольной и подопытной групп были выявлены признаки токсикоза: гиперимированные и увеличенные в объеме почки, ослизненные, отекающие жаберы. У отдельных особей

отмечено нарушение координации движений и клонические судороги боковой мускулатуры. При нормальном содержании кислорода в воде (10–11 мгО/л) у рыб наблюдались явные признаки гипоксии – оттопыренные жабры, учащенное дыхание.

Гидрохимическое исследование воды показало значительное повышение ПДК по нитритам (0,45 мгN/л при нормативе 0,02 мгN/л) и фосфатам (0,11 мгP/л при нормативе 0,02 мгP/л). В мазках крови у форели обеих групп отмечено наличие большого числа незрелых безъядерных эритроцитов, разрушение эритроцитов – «ядерные тени», что характерно для рыб, подвергшихся токсическому воздействию [3, 4]. Наблюдаемая нами гипоксия развивается вследствие нарушения эритропоэза, вызванного токсическим воздействием.

В дальнейшем у сеголеток контрольной и подопытной групп наблюдали клинические признаки миксобактериоза – анемию внутренних органов (печени и почек), анемию жабр, увеличение селезенки. В некоторых случаях селезенка больных рыб имела признаки фиброзного воспалительного процесса и была покрыта беловатым налетом. У 80 % рыб подопытной группы отмечено некротическое поражение спинного плавника. В ходе проведенных микробиологических исследований был выявлен возбудитель бактериального холодноводного заболевания – *Flavobacterium psychrophilum* (*Flexibacter psychrophilus*).

Так как обострение бактериальной инфекции проявилось на фоне токсического поражения, можно предположить, что именно токсикоз явился первопричиной ухудшения эпизоотического состояния сеголеток контрольной и подопытной групп. Подобное сочетание может сопровождаться высокими отходами рыб и затруднениями в постановке диагноза [9].

В начале наших исследований за 12 дней до постановки опыта гибель рыб составляла в подопытной группе – 5 %, в контрольной группе – 2 % (рис. 1). Тогда же были приняты меры по нормализации работы УЗВ и прекращению токсического воздействия на молодь форели. Тем не менее через 9 дней

отход сеголеток возрос в подопытной группе до 20,7 %, а в контрольной группе – до 9,7 % (рис. 1). К началу опыта в обеих группах наблюдался повышенный отход молоди форели с клиническими признаками токсикоза и бактериальной инфекции.

На седьмой день проведения опыта отход в подопытной группе снизился до 7,5 % за 10 дней, а в контрольной – до 4 %. В подопытной группе отмечена нормализация состояния эритроцитов. В контроле продолжают наблюдаться проявления эритропоэза.

По окончании 10-дневного курса лечения наблюдение за состоянием рыб в подопытной и контрольной группах были продолжено. Отход в подопытной группе снизился до 3,7 % в течение 10 дней со дня окончания опыта, а в контрольной, наоборот, увеличился до 7 % в течение 10 дней со дня окончания опыта (рис. 1). Состояние внутренних органов у рыб подопытной группы значительно лучше. У них не выявлена анемия жабр и внутренних органов, увеличение селезенки в отличие от молоди из контрольной группы.

К концу наблюдений через четыре недели после начала опыта отход рыб в подопытной группе составлял 4,2 %, а в контрольной – 4,3 % в течение 10 дней (рис. 1).

Навеска сеголеток форели в подопытной группе в конце опыта составила 15,3 г, а в контроле – 13,7 г (рис. 2).

Результаты воздействия препарата – снижение смертности рыб в опыте по сравнению с контролем – представлены в таблице 1.

В обеих группах наблюдали восстановление нормальной картины крови. Состояние эритроцитов в мазках крови соответствует норме. В подопытной группе наблюдали регенерацию поврежденных спинных плавников.

### Обсуждение результатов

Для опыта и контроля в нашей работе были взяты две группы рыб с приблизительно одинаковой навеской и в одинаковом количестве. Однако их эпизоотическое состояние несколько различалось. У подопытных рыб оно было значительно хуже. В начале наблюдений их гибель в 2,1–2,5 раза превышала гибель рыб в контрольной группе, у них было отмечено некротическое по-

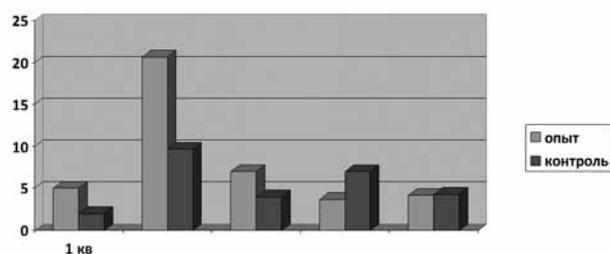


Рис. 1. Снижение гибели сеголеток радужной форели при проведении лечебно-профилактического кормления с пробиотиков Ветом 1.1 и с аскорбиновой кислотой.

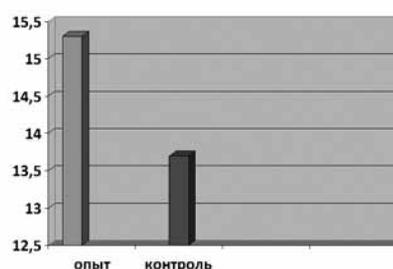


Рис. 2. Средняя масса тела сеголеток радужной форели в подопытной и контрольной группах.

Таблица 1.

## Воздействие пробиотика Ветом 1.1 на снижение смертности сеголеток радужной форели

Время	Смертность рыб в опыте, %	Смертность рыб в контроле, %
За 12 дней до начала эксперимента	5,0	2,0
За 9 дней до начала эксперимента	20,7	9,7
Начало эксперимента	21,0	12,7
7-й день эксперимента	7,5	4,0
10-й день эксперимента	3,7	7,0
Через четыре недели после начала эксперимента	4,2	4,3

ражение спинных плавников, не выявленное в контроле.

Тем не менее, к концу наблюдений отход рыб в подопытной группе снизился по сравнению с периодом максимальной гибели в 4,9 раз, а в контрольной группе – в 2,2 раза.

Если в начале опыта навеска сеголеток подопытной группы незначительно (на 0,66 г) превышала навеску в контрольной группе, то в конце опыта навеска в подопытной группе превышала навеску в контроле на 1,6 г.

Состояние жабр и внутренних органов у сеголеток нормализовалось как опыте, так и в контроле. Также наблюдали восстановление нормального состояния эритроцитов у рыб обеих групп. Это свидетельствует о достаточной эффективности стандартной методики профилактики заболеваний при стрессовой ситуации. Однако надо отметить ее явную недостаточность при сильном поражении рыб, что выразилось в повышении отхода в контрольной группе при прекращении введения в корм аскорбиновой кислоты. В то же время рыбы контрольной группы продемонстрировали устойчивое улучшение эпизоотического и физиологического состояния.

Введение пробиотика Ветом 1.1 позволило в сравнительно короткий срок снизить гибель рыб при вспышке бактериального заболевания, развивавшегося на фоне токсикоза, нормализовать их физиологическое состояние и активизировать регенерационные процессы. Необходимо учитывать, что токсический процесс характеризуется обратимостью, т. е. организм рыб способен восстанавливать свои функции при прекращении или снижении интенсивности токсического воздействия [7]. В этот период также введение пробиотика Ветом 1.1 оказывает положительное воздействие на физиологическое состояние рыб и способствует скорейшему восстановлению организма.

### Выводы

Проведенные нами исследования по оценке эффективности применения препарата Ветом 1.1 в УЗВ позволяют сделать ряд выводов.

1. Отмечено усиление регенерационных процессов, активизация нормализации общего физиологического состояния, восстановление нормального состояния клеток

красной крови (эритроцитов). Это позволяет рекомендовать использование препарата Ветом 1.1 для форели, выращиваемой в УЗВ, для улучшения их эпизоотического и физиологического состояния при обострении бактериальной инфекции, развивающейся на фоне токсического поражения.

2. Наблюдали увеличение навески у подопытных рыб, что свидетельствует о более интенсивном темпе роста рыб, в корм которых вводили Ветом 1.1.

3. Отмечена устойчивость рыб, прошедших курс лечебно-профилактического кормления препаратом Ветом 1.1 к неблагоприятным условиям содержания.

4. Введение препарата Ветом 1.1 рекомендуется проводить курсом в течение 10 дней в профилактической дозировке 50 мг/кг корма с добавлением аскорбиновой кислоты (1,5 г/кг корма) либо в лечебной дозировке 75 мг/кг корма с добавлением аскорбиновой кислоты (1,5 г/кг корма).

В дальнейшем требуются дополнительные исследования по эффективности воздействия препарата Ветом 1.1. на эпизоотическое и физиологическое состояние рыб разных возрастных групп, содержащихся в УЗВ.

## Список литературы

1. Быховская-Павловская, И. Е. Паразитологическое исследование рыб / М.-Л. : изд. АН СССР, 1952. – 63 с.
2. Васюков, И. И. Изучение микрофлоры форели в замкнутых системах / И. И. Васюков, Е. В. Авдеева //

Сборник научных трудов КТИ «Биологические основы индустриальной аквакультуры». – Калининград, 1984. – С. 54–59.

3. Житенева, Л. Д. Экологические закономерности ихтиогематологии / Л. Д. Житенева. – Ростов-на-Дону. – 1999. – 54 с.

4. Житенева, Л. Д. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте) / Л. Д. Житенева, Э. В. Макаров, О. А. Рудницкая. – Ростов-на-Дону, 2004. – 311 с.

5. Евдокимова, Е. Б. Проблема болезней рыб при искусственном воспроизводстве рыб в некоторых хозяйствах Калининградской области / Е. Б. Евдокимова, Е. В. Авдеева, М. Ю. Котлярчук // Материалы докладов II Международного симпозиума «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре». – Краснодар, 1999. – С. 34.

6. Котлярчук, М. Ю. Зараженность карпа бактериями рода *Aeromonas* в установке с замкнутым циклом водообеспечения Калининградского морского рыбного порта и оценка их патогенности / М. Ю. Котлярчук // Сборник научных трудов КГТУ «Гидробиология на рубеже веков и тысячелетий». – Калининград, 2001. – С. 182–187.

7. Лукьяненко, В. И. Общая ихтиотоксикология / В. И. Лукьяненко. – М., 1983. – 319 с.

8. Репина, Н. Н. Опыт применения препаратов Ветом в промышленном рыбоводстве / Н. Н. Репина, Т. А. Нечаева, А. Д. Соколов // Материалы научной конференции «Садковое рыбоводство. Технология выращивания. Кормление рыб и сохранение их здоровья». – Петрозаводск, 2008. – С. 85–88.

9. Токсикозы рыб с основами патологии. Справочная книга / составители Н. М. Аршаница, М. А. Первозников. – СПб., 2006. – 179 с.

10. Lumsden, J. S. Necrotic miositis in cage cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), caused by *Flexibacter psychrophilus* / J. S. Lumsden, V. E. Ostland, H. W. Ferguson // *J. Fish Diseases*. – 1996, Vol. 19, № 2. – P. 113–119.



## МОСКОВСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ВЕБ-ЦЕНТР

**webmvc.com**



Заболел Ваш домашний питомец? Не отчаивайтесь - посетите наш веб-центр!

У нас Вы найдете исчерпывающую информацию о болезни Вашего друга, лечении, профилактике и других вопросах ветеринарии. Также на нашем сайте Вы можете найти адрес ближайшей к Вам ветеринарной клиники, чтобы обратиться за помощью к специалистам.

Кроме этого, наш веб-центр располагает полным спектром информации по уходу за животными: будь то кошки или собаки, птицы или рыбы, черепахи или экзотические животные. Вы научитесь, как правильно разводить, кормить, дрессировать и воспитывать своих домашних питомцев. На страницах нашего сайта с Вами делаются опытом и советами признанные авторитеты в области ветеринарии и ухода за животными. К Вашим услугам - энциклопедические справочники и научные статьи о животном мире, фото и видеоматериалы, ежедневные новости и тематический форум.

Мы ждем Вас по адресу [www.webmvc.com](http://www.webmvc.com)

УДК 636.4:591.11

Ключевые слова: неспецифическая резистентность, ремонтные свинки, витамины, липосомальная эмульсия  
*Key words: nonspecific resistance, replacement gilts, vitamins, liposomal emulsion*

Огородник Н. З.

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ «ЛИПОВИТ» И «ТРИВИТ»  
НА КЛЕТОЧНОЕ И ГУМОРАЛЬНОЕ ЗВЕНО  
НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ РЕМОУННЫХ СВИНОК**  
*THE INFLUENCE OF PREPARATIONS "LIPOVIT" AND "TRIVIT"  
ON THE CELLULAR AND HUMORAL COMPONENTS  
OF NONSPECIFIC RESISTANCE OF REPLACEMENT GILTS*

Институт биологии животных Национальной академии аграрных наук Украины  
Адрес: 79034, Украина, г. Львов, ул. В. Стуса, 38  
*Institute of Animal Biology of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine  
Address: 79034, Ukraine, Lviv, V. Stus str., 38*

Огородник Наталия Зиновиевна, к. в. н., ст. научн. сотрудник, докторант лаборатории иммунологии  
*Ogorodnik Natalia Z., Ph.D. in Veterinary Science, Senior Researcher,  
Doctoral Student of the Laboratory of Immunology*

**Аннотация.** Исследовано влияние витаминов А, D<sub>3</sub>, Е в форме липосомальной эмульсии (препарат «Липовит») и в виде масляного раствора (препарат «Тривит») на показатели клеточного и гуморального звена иммунного ответа в организме ремонтных свинок. Установлено, что инъекции ремонтным свинкам препарата «Липовит» проявляют стимулирующее влияние на фагоцитоз нейтрофилов. Парэнтеральное введение ремонтным свинкам витаминных препаратов положительно влияет на лизоцимную и бактерицидную активность сыворотки крови. Отмечена большая эффективность от применения витаминов А, D<sub>3</sub>, Е в форме липосомальной эмульсии в повышении показателей неспецифической резистентности в крови ремонтных свинок, нежели от использования витаминов в виде масляного раствора.

**Summary.** *The influence of vitamins A, D<sub>3</sub>, E in the form of liposomal emulsion (preparation "Lipovit") and oil solution (preparation "Trivit") on the indices of cellular and humoral link of immune response in the organism of replacement gilts was investigated. It is found that injections of the preparation "Lipovit" in replacement gilts has stimulating influence on phagocytosis of neutrophils. Parenteral administration of vitamin preparations in replacement gilts contributes to better lysozyme and bactericidal activity of blood serum. Application of vitamins A, D<sub>3</sub>, E in the form of liposomal emulsion showed greater efficiency in the rise of indexes of nonspecific resistance in blood of the replacement gilts rather than the use of vitamins in the form of oil solution.*

## Введение

Промышленная технология производства продукции животноводства, с одной стороны, создает все условия для комплексной автоматизации и механизации основных процессов, а с другой – вступает в противоречие с физиологическими функциями организма, которые развились в процессе филогенеза [6]. Высокая концентрация поголовья, безвыгульное содержание, частые перегруппировки, нарушение норм кормления, изменения микроклимата в помещениях приводят к возникновению в организме животных стресс-реакции, уменьшающей сопротивляемость к неблагоприятным условиям [5]. Указанные факторы вызывают снижение иммунитета и способствуют возникновению

болезней, а в дальнейшем становятся причиной снижения продуктивных и репродуктивных качеств животных [2].

Укрепление здоровья животных, улучшение качества продукции невозможно без повышения их природной резистентности к факторам внешней среды. Иммунобиологическую реактивность организма животных можно стимулировать путем обеспечения их биологически-активными веществами, создания оптимальных условий содержания, применения прогрессивных методов повышения иммунной и антиоксидантной систем за счет использования препаратов, в составе которых содержатся витамины [3, 4].

Установлено, что использование липосомальных форм препаратов более эффектив-

но, нежели введение фармакологических средств в общепринятых формах [8]. Преимуществом липосомальных препаратов является их сходство с мембранами клеток, что предопределяет их высокую биодоступность. Липосомам свойственно удерживать внутри и на поверхности липидного слоя вещества любой химической природы с их постепенным выделением, что существенно продлевает срок действия препарата и предотвращает преждевременное разрушение и выведение из организма [7]. Благодаря селективному проникновению из крови в ткани липосомальные препараты владеют целенаправленной специфичностью, способны изменять фармакокинетику лечебных веществ, что значительно повышает их эффективность [8, 10]. Учитывая преимущества липосом, следует обратить внимание на разработку препаратов в форме липосомальных эмульсий и применять их не только в медицине, но и в ветеринарной практике.

Целью работы было изучение влияния жирорастворимых витаминов А, D<sub>3</sub>, Е в форме масляного раствора («Тривит») и их липосомальной формы («Липовит») на показатели естественной резистентности ремонтных свинок.

### Материалы и методы

Экспериментальная часть работы выполнена в условиях фермерского хозяйства на ремонтных свинках крупной белой породы 6-месячного возраста, которых разделили по принципу аналогов на контрольную и две опытные группы, по 5 животных в каждой группе. Свинкам контрольной группы вводили изотонический раствор натрия хлорида, животным первой опытной группы – препарат «Тривит», животным второй опытной группы – препарат «Липовит». Препарат «Липовит» разработан в лаборатории иммунологии Института биологии животных Национальной академии аграрных наук. Препараты вводили свинкам внутримышечно, дважды с интервалом в 10 суток, в дозе 3 мл. Для иммунологических исследований от ремонтных свинок брали кровь из ушной вены в день инъекции препаратов (I), на 7-е сутки после инъекции (II), а также – на 4-е (III)

и 11-е сутки (IV) после повторной инъекции препаратов.

В образцах крови определяли фагоцитарную активность нейтрофилов, фагоцитарный индекс и число (Гостев В. С., 1950), лизоцимную (Дорофейчук В. Г., 1968) и бактерицидную активность сыворотки крови (Марков Ю. М., 1968), содержание циркулирующих иммунных комплексов (Чернушенко Е. Ф., Когосова П. С., 1981). Статистические вычисления результатов проводили с использованием биометрических методов вариационного непараметрического анализа при помощи прикладной программы Microsoft Excel пакета Microsoft Office Professional XP.

### Результаты исследований и обсуждение

Основным принципом оценки иммунного статуса животных является количественная характеристика и оценка функциональной активности неспецифической резистентности, в том числе клеточного и гуморального иммунитета. В большинстве случаев иммунные реакции проявляются изменениями функционального состояния иммунокомпетентных клеток, активацией неспецифических и специфических механизмов защиты [1].

Исследования показателей неспецифической резистентности, в частности фагоцитарного звена иммунитета ремонтных свинок, представлены в таблице 1. Вместе с определением фагоцитарной активности нейтрофилов крови ремонтных свинок, с целью изучения степени интенсивности фагоцитоза, мы вычисляли фагоцитарный индекс и фагоцитарное число. Как свидетельствует анализ полученных результатов, фагоцитарная активность нейтрофилов крови у свинок контрольной и опытных групп существенно не отличалась. При этом в крови свинок второй опытной группы на 4-е и 11-е сутки после повторного введения препарата «Липовит» фагоцитарный индекс был больше ( $p < 0,05$ ), чем в крови свинок контрольной группы. Поскольку фагоцитарный индекс характеризует количество захваченных микроорганизмов одним активным фагоцитом, полученные данные свидетельствуют об активирующем влиянии витаминов А, D<sub>3</sub>, Е, введенных ре-

монтажным свинкам в форме липосомальной эмульсии, на способность сегментоядерных нейтрофилов к фагоцитозу микробных клеток. Наряду с этим обнаружено достоверное увеличение фагоцитарного числа ( $p < 0,05$ ) у ремонтных свинок второй опытной группы, сравнительно с контрольной, на 4-е сутки после повторного введения препарата «Липовит». Из этих данных следует, что введение ремонтным свинкам витаминов А, D<sub>3</sub>, Е в виде липосомальной эмульсии приводит к повышению клеточных механизмов защиты в их организме. Касательно первой опытной группы животных необходимо заметить, что препарат «Тривит» после повторной инъекции на 4-е и 11-е сутки повышал фагоцитарное число соответственно на 9 и 3,6 % ( $p < 0,5$ ).

Результаты исследований лизоцимной активности сыворотки крови ремонтных

свинок показали (табл. 2), что на 4-е сутки после повторного введения липовита и тривита разница с контрольной группой была выше ( $p < 0,05$ ). Согласно полученным данным, после введения липовита лизоцимная активность сыворотки крови ремонтных свинок второй опытной группы, в сравнении с контролем, увеличилась и на 7-е сутки ( $p < 0,05$ ).

Наличие в крови специфических веществ, которые принимают участие в удалении и обезвреживании патогенных частиц и микробных клеток, отображает степень бактерицидной активности сыворотки крови. В крови свинок второй опытной группы этот показатель на 7-е сутки после введения и на 4-е сутки после повторного введения препарата «Липовит» был заметно выше ( $p < 0,05$ ), чем в контроле. Также достоверные различия

**Таблица 1.**

**Показатели фагоцитоза нейтрофилов в крови ремонтных свинок**

Показатели	Группы животных	Периоды исследований			
		I	II	III	IV
Фагоцитарная активность, %	к	47,44±1,20	48,0±1,0	50,33±0,88	51,0±1,53
	I		50,33±0,88	52,75±1,11	51,25±1,11
	II		48,67±0,33	48,67±0,88	51,0±1,53
Фагоцитарный индекс, Ед.	к	8,60±0,15	9,01±0,44	8,15±0,15	8,75±0,28
	I		8,79±0,33	8,12±0,33	9,04±0,24
	II		8,74±0,31	9,39±0,23*	9,47±0,18*
Фагоцитарное число, Ед	к	4,08±0,11	4,33±0,29	4,10±0,06	4,47±0,23
	I		4,43±0,23	4,47±0,20	4,63±0,06
	II		3,77±0,15	4,57±0,09*	4,83±0,18

Примечание. Результаты статистически достоверны относительно контроля: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

**Таблица 2.**

**Гуморальные факторы защиты организма ремонтных свинок**

Показатели	Группы животных	Периоды исследований			
		I	II	III	IV
Лизоцимная активность, %	к	46,56±1,03	48,67±0,30	45,67±0,88	53,67±0,88
	I		50,0±1,16	48,0±0,58*	50,0±2,52
	II		53,25±1,38*	51,25±1,49*	54,67±3,18
Бактерицидная активность, %	к	30,23±2,66	39,34±2,66	27,46±1,12	23,0±2,13
	I		45,59±1,99	38,22±1,43**	22,14±1,22
	II		48,73±2,54*	38,14±3,94*	21,67±2,03
Циркулирующие иммунные комплексы, ммоль/л	к	80,66±2,14	81,66±1,45	87,60±2,01	82,35±3,28
	I		90,33±2,96*	88,0±3,05	83,66±2,66
	II		87,66±1,45	90,0±1,15	82,0±1,52

бактерицидной активности сыворотки крови наблюдались у свинок первой опытной группы на 4-е сутки после повторного введения препарата «Тривит» ( $p < 0,01$ ). Повышение бактерицидной активности сыворотки крови свинок может быть результатом влияния жирорастворимых витаминов на В-лимфоциты и иммуноглобулины, которые проявляют опсонизирующее действие на бактерии, связывают и активируют комплемент, способствуют индукции интерферона и синтезу лизоцима [9].

Проведенными исследованиями установлено увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов в крови свинок на 7-е сутки после инъекции им препарата «Тривит». Достоверное повышение содержания циркулирующих иммунных комплексов ( $p < 0,05$ ) в крови свинок первой опытной группы наблюдалось только в указанный период исследований с последующим их снижением к концу опытов к уровню, отмеченному в начале опытов.

Реакции иммунной системы включают комплексную взаимосвязь между мононуклеарными фагоцитами и Т-лимфоцитами, что приводит к активации гуморальных механизмов защиты, в том числе к синтезу антител [1]. Образование циркулирующих иммунных комплексов является результатом специфического взаимодействия антигенов с антителами. Увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов в крови свинок первой опытной группы в начале экспериментов можно объяснить антиген-антителостимулирующим влиянием компонентов препарата. В случае с «Липовитом» следует отметить, что липосомы сами по себе лишены свойств антигена, а размещенные внутри липосом вещества надежно защищены от контакта с иммунной системой, поэтому не вызывают развития ответных реакций со стороны организма.

По-видимому, увеличение показателей гуморального звена неспецифической резистентности организма ремонтных свинок является результатом комплексного действия жирорастворимых витаминов, за счет чего повышается функциональная активность клеток крови, ответственных за продукцию

опсонизирующих факторов, при этом происходит усиление кооперативного взаимодействия клеточных компонентов иммунной системы.

### Выводы

Введение ремонтным свинкам препаратов «Тривит» и «Липовит» способствовало повышению естественной резистентности их организма, о чем свидетельствует увеличение фагоцитарного числа и индекса ( $p < 0,05$ ), а также повышение лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови ( $p < 0,05-0,01$ ). Установлена большая эффективность применения препарата «Липовит» с целью повышения неспецифической резистентности организма ремонтных свинок, чем препарата «Тривит».

### Список литературы

1. Никулин, Б. А. Оценка и коррекция иммунного статуса / Б. А. Никулин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 376 с.
2. Смирнов, В. Динамика поколений свиноматок по продуктивности и адаптации / В. Смирнов // Свиноводство. – 2005, № 2. – С. 12–14.
3. Спиричев, В. Б. Теоретические и практические аспекты современной витаминологии / В. Б. Спиричев // Проблемы харчування. – 2006, № 2 (11). – С. 18–36.
4. Тикшайкин, Р. Н. Креззоферран и естественная резистентность ремонтных свинок / Р. Н. Тикшайкин, А. Н. Федонин, А. С. Федин, Д. Ш. Гайирбегов, С. В. Логинов // Технические и естественные науки: проблемы, теория, практика: сборник научных трудов. – Саранск, 2010. – Вып. XIII. – С. 85–87.
5. Титов, В. Н. Биологическая функция стресса, врожденный иммунитет, реакция воспаления и артериальная гипертензия / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008, № 12. – С. 3–16.
6. Толоконцев, А. Воспроизводительные и адаптационные качества свиней / А. Толоконцев // Животноводство России. – 2010, № 4. – С. 33–37.
7. Хромов, О. С. Экспериментальне обгрунтування застосування фосфатидилхолінових ліпосом у медицині / О. С. Хромов, А. І. Соловйов // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – Вып. 4 (5). – С. 83–88.
8. Chaize, B. Encapsulation of enzymes in liposomes: high encapsulation efficiency and control of substrate permeability / B. Chaize, J. P. Colletier, M. Winterhalter, D. Fournier // Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol. – 2004, V. 32, № 1. – P. 45–48.
9. Lai, Y. H. Mouse IL-13 enhances antibody production in vivo and acts directly on B cells in vitro to increase survival and hence antibody production / Y. H. Lai, T. R. Mosmann // J. Immunol. – 1999, V. 162. – P. 78–87.
10. Stathopoulos, G. P. Pharmacokinetics and adverse reactions of a new liposomal cisplatin (Lipoplastin): phase I study / G. P. Stathopoulos, T. Boulikas, M. Vougiouka et al // Oncol. Rep. – 2005, V. 13. – P. 589–595.

УДК 599.745.3:591.8

Ключевые слова: каспийский тюлень, экосистема, паренхиматозные органы, физиологическое состояние, патологические изменения

Key words: Caspian seal, ecosystem, parenchymatous organs, physiological state, pathological changes

Володина В. В., Грушко М. П., Федорова Н. Н.

## АНАЛИЗ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ *THE ANALYSIS OF HISTOLOGICAL STRUCTURE OF PARENCHYMATOUS ORGANS OF THE CASPIAN SEAL*

<sup>1</sup>ФГУП «Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»

Адрес: 414056, Россия, г. Астрахань, ул. Савушкина, 1

Тел./факс: (8512) 25-25-81, 25-86-36. E-mail: kaspiy@astranet.ru

<sup>1</sup>*Caspian Fisheries Research Institute*

*Address: 414056, Russia, Astrakhan, Savushkina str., 1.*

*Tel./fax: + 7 (8512) 25-25-81, 25-86-36. E-mail: kaspiy@astranet.ru*

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет»

Адрес: 414056, Россия, г. Астрахань, ул. Татищева, 16

<sup>2</sup>*Astrakhan State Technical University, Astrakhan*

*Address: 414056, Russia, Astrakhan, Tatischeva str., 16*

Володина Виктория Викторовна, научн. сотрудник лаборатории ихтиопатологии<sup>1</sup>

*Volodina Victoria V., Researcher of the Laboratory of Ichthyopathology<sup>1</sup>*

Грушко Мария Павловна, д. б. н., проф. каф. гидробиологии и общей экологии<sup>2</sup>

*Grushko Maria P., Doctor of Biology Science, Professor of the Hydrobiology and General Biology Dept.<sup>2</sup>*

Федорова Надежда Николаевна, д. м. н., профессор кафедры гидробиологии и общей экологии<sup>2</sup>

*Fedorova Nadezhda N., Doctor of Medicine, Professor of the Hydrobiology and General Biology Dept.<sup>2</sup>*

**Аннотация.** Представлены результаты патоморфологического состояния паренхиматозных органов каспийского тюленя (*Phoca caspica*). Выявлены следующие патологические изменения в изученных органах: цирроз печени; амилоидоз и хронический гломерулонефрит почек; катаральный гастрит желудка; катаральный десквамативный энтерит тонкого кишечника; разные виды колита (острый, язвенный, хронический) в толстом отделе кишечника, фиброз и гемосидероз селезенки; хронический панкреатит поджелудочной железы. Выявленные нарушения в органах свидетельствуют о негативном влиянии среды обитания на физиологическое состояние обследованных животных.

**Summary.** The paper presents the results of the pathomorphological state of parenchymal organs of the Caspian seal (*Phoca caspica*). The following pathological changes are revealed in the examined organs: liver cirrhosis, amyloidosis and chronic glomerulonephritis; catarrhal gastritis; catarrhal desquamative enteritis of the small intestine; different types of colitis (acute, ulcerative, chronic) of the large intestine, fibrosis and splenic hemosiderosis, chronic pancreatitis. Disorders found in the organs provide evidence of the negative impact of the environment on the physiological state of the examined animals.

### Введение

Современное экологическое состояние экосистемы Каспийского моря является следствием всей истории экстенсивного экономического развития региона, обусловленное наличием разведанных и добываемых запасов углеводородного сырья, транспортными водными нагрузками, промышленными объектами, сельскохозяйственным сектором [7]. В последние годы мощность антропогенного пресса на морские экосистемы многократно возросла: по классификационному индексу токсического загрязнения Каспийские воды

можно отнести от «слабо» и «умеренно загрязненных» в Северном Каспии до «загрязненных» в Среднем и Южном Каспии [8]. Антропогенное загрязнение морской среды является существенным экологическим фактором, лимитирующим жизнедеятельность биологических систем на разных уровнях их организации в водной среде. Изучение особенностей функционирования водных организмов, обитающих в хронически загрязненной водной среде, является одной из актуальных проблем гидроэкосистем. Информация о состоянии здоровья водных

животных очень важна для оценки экологической ситуации в акваториях, подвергнутых техногенному воздействию. В связи с этим целью нашей работы явилось изучение физиологического состояния каспийского тюленя (*Phoca caspica*) на основе гистологического анализа его паренхиматозных органов.

### Материал и методы исследования

Объектом исследования являлись двадцать каспийских тюленей, средний возраст которых составил 15 лет. Животные были отловлены вблизи о. Малый Жемчужный на предзимних залежках в октябре – ноябре 2011, 2012 гг. Средняя масса и длина обследованных зверей составила  $60,6 \pm 5,21$  кг и  $133,9 \pm 3,66$  см, соответственно. Толщина подкожно-жировой клетчатки варьировала от 4,0 до 8,0 см.

Ткани паренхиматозных органов (печени, почек, селезенки, поджелудочной железы, желудка, тонкого и толстого кишечника) фиксировали в жидкости Буэна. Обработку полученного материала проводили по общепринятым методикам [1]. Гистологические срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, по Малори. Микроскопирование фиксированных и окрашенных препаратов осуществлялось с помощью светового микроскопа OLYMPUS BH-2 («OLYMPUS», Япония), МИКРОМЕД-2 («Медприбор», Россия) с применением иммерсии.

### Результаты исследований и обсуждение

Печень принимает активное участие в динамике гомеостаза, поскольку она занимает центральное место в регуляции обмена веществ и является связующим звеном между портальным и общим кругом кровообращения [4]. Проведенный гистологический анализ *печеночной ткани* показал, что у всех исследованных особей в этом органе были выявлены различные патологические изменения. Отмечена воспалительная реакция, которая сопровождалась развитием дистрофических и некробиотических изменений, отеком паренхимы и соединительной ткани, лимфоцитарной инфильтрацией, имеющей локальный характер. Разноразмерные ин-

фильтраты были обнаружены в основном вокруг сосудов. Гепатоциты характеризовались следующими дистрофическими изменениями: белковой зернисто-базофильной и эозинофильной дистрофией, жировой дистрофией, светлым и мутным набуханием клеток.

В связи с массивным отеком органа, четких границ печеночных долек не выявлено, границы отдельных балок также были не четки.

Отмечены мелкие и крупные некротические участки, приводящие к деструкционным изменениям паренхимы печени, а также участки активной регенерации и пролиферации клеток, особенно соединительной ткани, вокруг мелких и крупных сосудов печени. Подобные изменения характерны для фиброза. Воспалительные, деструктивные и пролиферативные изменения в печеночной ткани обусловили нарушение дольчатой структуры этого органа. В паренхиме печени обнаружены мелкие геморрагии различной величины.

Также был выявлен полиморфизм гепатоцитов, провоцирующий функциональный полиморфизм клеток печени, характеризующийся неодинаковой биосинтетической активностью. Выявлен и полиморфизм ядер клеток. Около 20 % клеток имели темные мелкие пикнотические ядра, 60 % клеток имели крупные светлые ядра округлой формы с гетерохроматином, расположенным по периферии ядра, также выявлены и безъядерные клетки. Вследствие дистрофических изменений у основной массы клеток ядро было расположено эксцентрично. Отмечено набухание клеток и содержание в них мелких гранул гемосидерина.

Обеспечивая постоянство внутренней среды организма, печень участвует в детоксикации ксенобиотиков, приносимых с кровью в составе веществ, усвоенных при пищеварении. Токсины оказывают преимущественно повреждающее воздействие на структурные элементы органа, первично контактирующие с портальным кровообращением. В результате хронического раздражения компонентов междольковой соединительной ткани, в которой находится междольковая вена как элемент портального кровообращения, в печени

возникают цирротические изменения [4]. Результаты исследований показали, что в печеночной ткани каспийского тюленя выявлено развитие портального цирроза, обусловленного хроническим токсическим воздействием поллютантов, поступающих в организм животных с пищей и водой.

В **почках** каспийских тюленей выявлено несколько видов патологии.

**Амилоидоз почек.** Все почечные сосуды разных калибров имели значительные утолщения стенок из-за разрастаний соединительной ткани; в стенках этих сосудов были видны пучки грубых коллагеновых волокон. Под базальной мембраной эндотелия находились массы амилоида. В связи с этим диаметр сосудистых полостей был резко сужен, в полостях сосудов почек находилась только плазма. Обнаружены значительные геморагии и особенно плазморагии, расположенные по ходу почечных сосудов. Мелкие сосуды почек межканальцевой ткани были неравномерно расширены, забиты элементами крови (эритроцитами). По ходу этих артериол проходили тонкие коллагеновые волокна. В цитоплазме эпителиальных кубических клеток проксимальных и дистальных извитых канальцев отмечено мутное набухание, причем полости канальцев были относительно узкими, в некоторых из них находились акклюзии полостей; часть полостей оставалась свободной, в некоторых полостях находились пенистые, по-видимому, белковые массы, некротизированные клетки эпителия или единичные эритроциты. Значительное количество извитых канальцев отличалось некрозом эпителиальных пластов и разрушениями базальных мембран. Причем рядом находившиеся разрушенные базальные мембраны способствовали «объединению» полостей соседних извитых канальцев. Чем ниже к центру почки находились извитые канальца, тем меньше было тех из них, в которых наблюдались некрозы. Почечные тельца были значительно увеличены, в них, почти во всех, отсутствовали мочевые пространства. Во всех петлях капилляров было заметно отложение масс амилоида.

Таким образом, в этой группе животных выявлены следующие патологические из-

менения: некрозы эпителиальных пластов и разрушения базальных мембран, извитых канальцев, значительные разрастания соединительной ткани в стенках почечных сосудов и по ходу артериол, микроциркуляторные нарушения (гемо- и плазморагии), отложения масс амилоида в стенках сосудов и в почечных тельцах, что, несомненно, приводило к хронической почечной недостаточности.

**Хронический гломерулонефрит.** Основным изменением почек каспийского тюленя явились симптомы хронического (вторичного) гломерулонефрита, то есть многоклеточность (гиперцеллюлярность) клубочков, возникшая при воспалительных поражениях почек и сопровождавшаяся увеличением количества клеток в почечных тельцах. Такая многоклеточность обусловлена пролиферацией мезангиальных, эндотелиальных, париетальных эпителиальных клеток и лейкоцитарной инфильтрацией. Объем мочевое пространство был относительно небольшим. В некоторых клубочках мочевое пространство отсутствовало. Тубулярные изменения характеризовались следующим: в цитоплазме извитых канальцев обнаружено мутное набухание, в связи с чем границы между эпителиальными клетками было трудно выявить, ядра определялись в базальных частях клеток. В некоторых извитых канальцах пласт эпителиальных клеток отслаивался от базальной мембраны. В отдельных канальцах наблюдалось разрушение эпителиального пласта, его базальной мембраны и всей стенки извитого канальца, что свидетельствует о некрозе. В межканальцевой ткани выявлены отек и инфильтрация лейкоцитами (лимфоцитами), около стенок сосудов отмечены мелкие кровоизлияния. Во многих полостях извитых канальцев зарегистрированы белковые образования в виде пены.

Таким образом, у этой группы тюленей выявлены следующие изменения: некрозы эпителиальных пластов, базальных мембран и даже самих стенок извитых канальцев, гиперцеллюлярность в почечных тельцах, что, возможно, могло привести к хронической почечной недостаточности.

Патологические изменения в почках млекопитающих обычно обусловлены про-

цессами напряжения метаболизма, физиологической отягощенностью при лактации, токсическим воздействием токсикантов, содержащихся в кормовых объектах [4].

**Селезенка** каспийского тюленя была покрыта толстой капсулой из плотной волокнистой соединительной ткани. От капсулы внутрь органа отходили мощные трабекулы, разделявшие паренхиму органа. Толстые трабекулы соединялись друг с другом, в них хорошо были видны коллагеновые волокна и отдельные гладкие мышечные клетки. Внутри трабекул проходили расширенные трабекулярные вены, заполненные в основном плазмой с незначительным количеством форменных элементов крови. Некоторые из таких вен в связи со значительным расширением превратились в сосудистые лакуны, превышавшие диаметр самих трабекул. Более половины объема органа составляли разросшиеся соединительнотканые трабекулы, что свидетельствует о снижении функции селезенки.

В селезенке тюленя были довольно редкими и мелкими образования из белой пульпы. Обычно в них эксцентрично располагалась центральная артерия (артериола), от которой отходили радиально более мелкие сосуды. Вокруг этой центральной артерии имелась «оболочка» из лимфоцитов – периартериальное лимфатическое влагалище, которое переходило в довольно мелкие лимфоидные узелки. Вокруг таких образований располагалась относительно узкая маргинальная зона, состоявшая из расположенных радиально сосудистых синусов и плотных скоплений ретикулоцитов, лимфоцитов и макрофагов. В синусах маргинальной зоны находилась только плазма без форменных элементов крови. В некоторых образованиях белой пульпы центральные артерии имели очень узкие полосы из-за разрастания соединительной ткани в их оболочках, у отдельных экземпляров центральные артерии были без просвета. Четких границ герментативных центров выявить не удалось.

Красная пульпа состояла из селезеночных тяжей и синусоидов. Селезеночные тяжи содержали ретикулоциты, лимфоциты, макрофаги, многочисленные клетки крови:

эритроциты, в том числе и дегенерирующие, лимфоциты, гранулоциты (в основном юные), также выявлялись скопления тромбоцитов.

Все сосуды исследуемых органов были расширены и заполнены в основном плазмой крови.

Кроме фиброза селезенки, у некоторых обследованных животных диагностирован гемосидероз. Постоянная венозная гиперемия сопровождалась вытеснением эритроцитов из переполненных вен. За пределами сосудов эритроциты разрушались, в тканях органа происходило накопление железосодержащего бурого пигмента – гемосидерина. Ткани селезенки в связи с этим приобрели темно-коричневую окраску, а процесс назывался бурой индурацией. Часть гемосидерина фагоцитировалась макрофагами. После поглощения большого количества пигмента эти клетки называют гемосидерофагами.

Вся площадь красной пульпы была занята глыбками гемосидерина. Они располагались внеклеточно и внутриклеточно – в макрофагах. Разноразмерные глыбки гемосидерина в основном имели округлую форму.

Таким образом, у всех исследованных каспийских тюленей в селезенке шли процессы пролиферации соединительной ткани (фиброз селезенки), у некоторых из них – интенсивные процессы разрушения эритроцитов, что обусловлено развитием анемии у этих животных.

Следует отметить, что лимфоцитарное истощение селезенки, сопровождающееся пролиферацией ретикулоэндотелиальных клеток и увеличением эритрофагии, а в некоторых случаях и некрозом клеток, наблюдается при воздействии токсикантов, даже при небольших его концентрациях [10].

В стенке **желудка** четко выявлялись слизистая оболочка, подслизистая основа, мышечная и серозная оболочки. Слизистая оболочка желудка была резко гиперемирована, имела довольно грубые складки. Желудок выстлан однослойным призматическим эпителием, отмечены значительные участки слущивания клеток эпителия. Основная масса собственной пластинки слизистой оболочки желудка была представлена многочис-

ленными желудочными железами. Просвет желез желудка был плохо различим из-за отека собственной пластинки слизистой оболочки. Границы клеток желез также не различались. У 30 % желез на препарате эпителиальные клетки отслаивались от базальной мембраны, при этом все содержимое клеток концентрировалось в их апикальной части. Основная масса эпителиальных клеток дна желез имела пикнотичные ядра. В собственной пластинке слизистой оболочки желудка выявлены участки инфильтрации лимфоцитами, как правило, эти участки локализовались в верхней трети слизистой оболочки. В рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани собственной пластинки (ближе к просвету желудка) наблюдались мелкие кровоизлияния, отмечали разрывы капилляров, при этом кровь попадала в желудочные ямки и далее в просвет желудка. У 1/5 исследованных особей выявляли некротизированные участки верхнего слоя слизистой оболочки.

У некоторых особей зарегистрированы значительные участки разрастания соединительной ткани между железами, что привело к замещению некротических очагов. Подслизистая основа, отделенная от слизистой оболочки мощной мышечной пластинкой, была представлена рыхлой соединительной тканью, включала большое количество кровеносных сосудов различного диаметра. Сосуды были расширены и заполнены плазмой. Далее следовала очень мощная мышечная оболочка, состоящая из трех гладкомышечных слоев.

Таким образом, в результате исследования гистопатологического состояния желудка каспийских тюленей выявлены следующие значительные нарушения: отек слизистой оболочки, кровоизлияния, некроз тканей слизистой оболочки и замещение железистой ткани на соединительную, что свидетельствует о катаральном гастрите.

Кишечные ворсинки *тонкого кишечника* имели разную высоту, толщину и длину. Верхушки ворсинок были значительно расширены по сравнению с их основаниями. Именно на верхушках ворсинок и на их боковых поверхностях выявлялись некротизированные

участки эпителиальных клеток. У некоторых эпителиальных клеток были разрушены апикальные части, также выявляли участки, где эпителиальные клетки были полностью разрушены до базальной мембраны. Обнаружены целые эпителиальные пласты, отделившиеся от базальной мембраны.

Каемчатые клетки составляли основную массу эпителия, среди них, особенно на верхушках ворсинок, встречали гипертрофированные бокаловидные клетки. Каемчатые клетки имели мелкозернистую цитоплазму, базально лежащее овальное ядро с одним-двумя ядрышками. Из-за имеющегося отека четко определить базальную мембрану было невозможно. Кишечные крипты были выстланы в основном малодифференцированными более низкими клетками по сравнению с эпителиальными клетками кишечных ворсинок. На границах ворсинок и крипт обнаружены отдельные клетки с ацидофильными гранулами (клетки Панета). Причем крипты были заполнены слизистым секретом. Интраэпителиальные лимфоциты постоянно присутствовали между эпителиоцитами кишки.

Собственная пластинка состояла из рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани с высоким содержанием лимфоцитов и макрофагов. Кровеносные капилляры ворсинок были неравномерно расширены, заметны их значительные расширения в верхушках ворсинок; в соединительной ткани верхней части кишечных ворсинок были отмечены мелкие кровоизлияния. В некоторых верхушках ворсинок некроз затрагивал не только эпителий, но и распространялся на соединительную ткань, причем отмечены разрывы капилляров на верхушках кишечных ворсинок, от чего кровь попадала в просвет кишки. Наблюдался отек не только эпителия, но и подлежащей соединительной ткани.

Анализ состояния кишечника каспийских тюленей позволил выявить симптомы катарального десквамативного энтерита: полнокровная и отечная слизистая оболочка была обильно покрыта слизистым экссудатом. Отмечались дистрофия и десквамация эпителия, особенно на верхушках ворсинок.

Результаты анализа *толстого кишечника* показали, что его просвет выстилал однослойный призматический каемчатый эпителий с большим количеством бокаловидных клеток. В нем отмечены участки некроза эпителия. Слизистая оболочка была значительно гиперемирована, бокаловидные клетки гипертрофированы в связи с большим количеством вырабатываемого секрета. Выявлялись крипты с эпителием, отслаивающимся от базальной мембраны, а также крипты, где эпителиальные клетки были наполовину разрушены. Отмечали значительного размера участки с признаками воспаления, причем инфильтрат распространялся и в подслизистый слой. Также в слизистой оболочке толстого кишечника выявлены кровоизлияния разной величины. Данные изменения характерны для острого колита.

У некоторых особей слизистая оболочка толстой кишки была сильно инфильтрирована лимфоцитами, нейтрофилами и эозинофилами, сосуды ее были неравномерно расширены, имелись множественные эрозивные образования эпителия. Подобные изменения характерны для язвенного колита.

У отдельных особей зарегистрированы признаки хронического колита, характеризующиеся ярко выраженными воспалительными явлениями. Отмечали утолщения или десквамацию поверхностного эпителия. В слизистой оболочке наблюдали множественные кровоизлияния и эрозии эпителиального слоя. Ближе к просвету в слизистой оболочке кишечника некоторых исследованных животных выявляли участки разрастания соединительной ткани, которая замещала участки кишечных крипт, ранее подвергавшихся некрозу. Зарегистрированы атрофия и склероз слизистой оболочки, при этом соединительнотканная строма складок и ворсинок была обнажена.

Таким образом, в толстом отделе кишечника выявлены разные виды колитов (острый, язвенный, хронический).

Состояние органов пищеварительного тракта у животных в первую очередь зависит от качества пищи. Немаловажное значение в развитии заболеваний пищеварительной системы имеют инфекционные и паразитар-

ные заболевания. Так, у каспийского тюленя в желудочно-кишечном тракте паразитируют трематоды, цестоды, нематоды и скребни [5]. Так, инвазированность каспийского тюленя нематодой *Anisakis schupakovi* достигала 100 % [2]. Трематоды *Ciureana badamschini* и *Mesorchis advena*, обнаруженные на гистологических срезах кишечника всех обследованных тюленей, характеризовались высокими показателями интенсивности инвазии (несколько сотен тысяч). Трематоды *Pseudamphistomum truncatum* паразитируют в печени, общем желчном протоке, желчном пузыре, поджелудочной железе, толстом и тонком кишечнике, желудке, провоцируя инвазионное заболевание. Псевдамфистомоз у каспийских тюленей выявляют ежегодно на разных стадиях течения болезни [3]. Скребни *Corinosoma strumosum* регистрируют ежегодно у 50 % обследованных зверей [2].

Следует отметить, что помимо механического разрушения тканей паразиты токсически воздействуют на организм хозяина, отравляя его продуктами метаболизма живых гельминтов и продуктами распада погибших [6]. В результате этого паразитирование может привести как к ослаблению барьерных функций организма, так и послужить причиной возникновения вторичной инфекции. Ассоциации различных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, вирусов, аэробов, анаэробов и другие патогенные агенты принимают непосредственное участие в развитии заболеваний желудочно-кишечного тракта у животных [9].

В *поджелудочной железе* тюленя четко прослеживалось дольчатое строение. Каждая долька железы была разделена тонкой соединительнотканной прослойкой. Дольки состояли из ацинусов, которые напоминали мешочки из ацинозных клеток, вырабатывающих экзокринный секрет. Границы между ацинозными клетками были нечеткими из-за отека ткани железы. У ациноцитов довольно крупное ядро было смещено к базальной мембране, свободная часть цитоплазмы клетки содержала крупные яркоокрашенные зимогенные гранулы. При этом у некоторых особей было отмечено разное содержа-

ние секреторных гранул в клетках ацинуса. Выявляли одиночные клетки, в которых содержание секрета было незначительным (1/5 объема). Следует отметить, что эндотелиальные клетки капилляров железы были отечны, что проявлялось в резком уменьшении полости сосуда. У большей части проанализированных особей в соединительной ткани между ацинусами наблюдали мелкие кровоизлияния. У некоторых тюленей зарегистрированы некротические участки эпителия ацинуса, где ацинозные клетки были разрушены. У кровеносных сосудов стенки были сильно утолщены из-за разрастания соединительной ткани, иногда соединительная ткань полностью закрывала просвет сосуда. Протоки железы, выстланные кубическим эпителием, были заметно расширены.

Отмечено, что практически у всех особей островки Соболева – Лангерганса, то есть часть поджелудочной железы, которая выполняет эндокринную роль, имели незначительные размеры, в большинстве случаев – едва заметные. Островки представляли собой скопления небольших сферической формы эпителиальных клеток – эндокриноцитов, которые сопровождали многочисленные гемокапилляры, оплетающие эти клетки. Некоторые островки, состоящие из тонких клеточных тяжей, чередовались с фиброзными прослойками. Вокруг таких островков зарегистрированы эозинофилы и лимфоциты.

У 10 % исследованных тюленей в поджелудочной железе преобладали склеротические и атрофические процессы; при этом половина железы была замещена соединительной тканью, в оставшейся ацинозной части железы выявлялись значительные некротизированные участки. Островки Соболева – Лангерганса, расположенные в этой части железы, были разного размера, часть клеток островков также была подвергнута некрозу.

У 5 % особей в расширенных протоках поджелудочной железы находились скопления гельминтов, при этом была выявлена гиперплазия слизистой оболочки; в стенках протоков железы отмечались воспалительные инфильтраты.

Выявленные патологические процессы в поджелудочной железе тюленей указывают на симптомы хронического панкреатита, причиной которого, возможно, послужили инфекции, интоксикация, болезни печени, желудка и кишечника.

## Заключение

Проведенные исследования патоморфологического состояния паренхиматозных органов каспийского тюленя позволили выявить следующие патологические изменения: цирроз печени; амилоидоз и хронический гломерулонефрит почек; катаральный гастрит желудка; катаральный десквамативный энтерит тонкого кишечника; разные виды колита (острый, язвенный, хронический) в толстом отделе кишечника, фиброз и гемосидероз селезенки; хронический панкреатит поджелудочной железы. Выявленные нарушения в органах исследованных тюленей свидетельствуют о неблагоприятном физиологическом состоянии представителей этой группы животных, обитающих в Каспии, что, прежде всего, связано с негативным состоянием их среды обитания.

## Список литературы

1. Волкова, О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М. : Медицина, 1982 – 304 с.
2. Володина, В. В. Инвазионные заболевания каспийского тюленя / В. В. Володина, М. П. Грушко // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2012, № 2 (14). – С. 25–29.
3. Володина В. В. Эпидемиологически значимые гельминты – причина патологических изменений в органах и тканях каспийского тюленя / В. В. Володина // Состояние, охрана, воспроизводство и устойчивое использование биологических ресурсов внутренних водоемов : материалы междунар. науч.-практ. конф. – Волгоград, 2007. – С. 60–62.
4. Ежкова, А. М. Биогеоценоз системы «почва-растение-животное» в различных техногенных зонах Республики Татарстан и корреляция ее местными бентонитами : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / А. М. Ежкова – Казань, 2006. – 50 с.
5. Курочкин, Ю. В. К гельминтофауне каспийского тюленя / Ю. В. Курочкин, В. И. Заблочкий // Труды Астраханского заповедника. – Вып. 4. – Астрахань, 1958. – С. 337–343.
6. Лысенко, А. Я. Клиническая паразитология / А. Я. Лысенко. – Женева, 2002. – С. 515–520.

7. Рылина, О. Н. Оценка современного эколого-токсикологического состояния экосистемы Северного Каспия / О. Н. Рылина, Н. В. Карыгина, О. В. Попова, Э. С. Попова, Е. В. Галлей, О. А. Львова, Л. М. Ивлева, С. П. Чехомов, А. В. Азаренко, О. Г. Тарасова // Рыбохозяйственные исследования в низовьях реки Волги и Каспийском море : сборник научных трудов. – Астрахань : КаспНИРХ, 2012. – С. 144–155.

8. Рылина, О. Н. Оценка состояния водной среды северной части Каспийского моря по токсикологическим показателям / О. Н. Рылина, О. В. Попова, Н. В. Карыгина, Э. С. Попова // Материалы IV между-

нар. науч.-практич. конф. «Проблемы сохранения экосистемы Каспия в условиях освоения нефтегазовых месторождений» (11–13 октября 2011 г., Астрахань). – Астрахань : КаспНИРХ, 2011. – С. 192–197.

9. Семенова В. И. Клинико-морфологическая характеристика гастроэнтеритов у телят и их терапия терфуменами : автореф. дис. ... канд. биол. наук / В. И. Семенова. – Воронеж, 2001. – 25 с.

10. Федорова, Н. Н. Влияние соединений олова и тетрафенилпорфирина на морфологию селезенки крыс / Н. Н. Федорова, О. В. Ложниченко, М. Н. Коляда, О. И. Есина, Н. С. Алтуфьева, Н. Т. Берберова // Вестник АГТУ. – 2005, № 3 (26). – С. 222–227.

## АППАРАТ ДЛЯ ИМПУЛЬСНОЙ БИОСИНХРОНИЗИРОВАННОЙ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ТЕРАПИИ «УМИ-05»

На протяжении многих лет клиника БНПЦ ЧИН и Институт Ветеринарной Биологии (Санкт-Петербург) использует в своей практике уникальный прибор – генератор низкочастотного магнитного импульсного излучения большой мощности «УМИ-05» (ранее «УИМТ-2», «УИМТ-3»). Данный прибор применяется для моно- или комплексной терапии целого ряда заболеваний, которые ранее считались неизлечимыми или очень тяжело поддавались лечению.

### Основные направления применения «УМИ-05»

- Заболевания мочевой системы: мочекаменная болезнь, пиелонефрит, поликистоз, цистит.
- Желчекаменная болезнь.
- Заболевания опорно-двигательного аппарата: остеохондроз позвоночника, дископатия, артрозо-артриты, бурсит, растяжение связок, ушибы, контрактуры суставов, миозит.
- Купирование эпилептических приступов и эпилептического статуса.
- Гипертензия.
- Отит гнойный.
- Отит аллергический.

### Стандартный курс лечения

- 10 сеансов по 30–50 импульсов на одну патологическую область. Мощность 50–80 %. Курс можно повторить с перерывом в 10 дней.
- Профилактический курс для животных группы риска (остеохондроз, МКБ и пр.) – 7–10 сеансов с интервалом 6 месяцев.
- Применение прибора не вступает в противоречие с использованием фармакологических и хирургических методов лечения.
- Магнитотерапию не следует проводить на области тела, содержащей металлоконструкции (например, штифты или пластины для остеосинтеза).

### Экономика

- Быстрая окупаемость прибора.
- Минимальная затрата рабочего времени: длительность одного сеанса на одну патологическую зону – 2–3 минуты.
- Высокая эффективность лечения, полное излечение или введение животного в стойкую ремиссию по всем перечисленным заболеваниям гарантируют значительное увеличение рейтинга клиники в целом и приток новых клиентов.

**Стоимость прибора 19 500 руб.**

Заказать УМИ-05 можно по тел./факсу: (812) 927-55-92;  
по e-mail: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru). Подробности на сайте: [www.invetbio.spb.ru](http://www.invetbio.spb.ru)



УДК 636.4:616.25-002.155-091

Ключевые слова: свиньи, болезни, диагностика, дифференциация

Key words: swine, diseases, diagnostics, differentiation

Кудряшов А. А., Максимов Т. П., Балабанова В. И., Выдрина М. И.

**ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА  
БОЛЕЗНЕЙ СВИНЕЙ С ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫМ СИНДРОМОМ  
В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА**  
*ANATOMICOPATHOLOGICAL DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS  
OF GASTROENTERIC SYNDROME IN SWINE AT INDUSTRIAL LIVESTOCK COMPLEX*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5. Тел. (812) 388-13-78

<sup>1</sup>*Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine*

Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5. Tel. +7 (812) 388-13-7

<sup>2</sup>ООО «Берингер Ингельхайм»

Адрес: 125171, Россия, Москва, Ленинградское шоссе, 16А, стр. 3

<sup>2</sup>*LLC Boehringer Ingelheim*

Address: 125171, Russia, Moscow, Leningradskoe chaussee, 16A, bldg. 3

Кудряшов Анатолий Алексеевич, д. в. н., проф., зав. каф. патологической анатомии<sup>1</sup>

*Kudryashov Anatoliy A., Doctor of Veterinary Science, Professor, Head of the Pathologic Anatomy Dept.<sup>1</sup>*

Максимов Тимофей Петрович, к. в. н., менеджер по работе с ключевыми клиентами<sup>2</sup>. Тел. 8 (911) 922-95-59

*Maximov Timofey P., Ph.D. in Veterinary Science, Key account manager<sup>2</sup>. Tel. +7 (911) 922-95-59*

Балабанова Виктория Игоревна, к. в. н., доцент каф. патологической анатомии<sup>1</sup>

*Balabanova Victoria I., Ph.D. in Veterinary Science, Associate Professor of the Pathologic Anatomy Dept.<sup>1</sup>*

Выдрина Мария Игоревна, к. в. н., ассистент каф. патологической анатомии<sup>1</sup>

*Vydrina Maria I., Ph.D. in Veterinary Science, Assistant of the Pathologic Anatomy Dept.<sup>1</sup>*

**Аннотация.** В результате комплекса диагностических исследований определены патологоанатомические изменения, типичные для колибактериоза, анаэробной дизентерии, сальмонеллеза и пролиферативной энтеропатии (лавсонииоза) свиней, что предложено использовать для их дифференциальной диагностики.

**Summary.** The set of studies resulted in definition of anatomicopathological changes which are typical of colibacteriosis, anaerobic dysentery, salmonellosis and proliferative enteropathy (lawsoniosis). We propose to use the findings for differential diagnostics of these diseases.

## Введение

Болезни свиней, протекающие с желудочно-кишечной симптоматикой, наряду с респираторными болезнями [2], являются одной из главных причин экономических потерь в промышленном свиноводстве. Эти болезни появляются в первые дни жизни, в период приспособления желудочно-кишечного тракта животных к новому виду корма в послеотъемный период, а также на стадии откорма в возрасте 15–20 недель [1, 4]. Ущерб от них складывается из повышенной смертности, снижения среднесуточного привеса, отставания в росте и развитии [3].

Своевременная патологоанатомическая диагностика болезней с желудочно-кишечной патологией является важным этапом в постановке диагноза и последующем при-

нятии мер, направленных на ликвидацию болезней и сохранения поголовья.

Цель данного исследования – выявление характерных патологоанатомических изменений при инфекционных болезнях свиней с желудочно-кишечным синдромом, а также разработка их первичной дифференциальной диагностики в условиях свинокомплекса.

## Материалы и методы исследования

В свиноводческом комплексе в течение полугода провели патологоанатомическое исследование 73 павших поросят: 32 – с диагнозом колибактериоз (эшерихиоз), 21 – анаэробная дизентерия, 11 – сальмонеллез и 9 – пролиферативная энтеропатия (лавсонииоз). При постановке диагноза учитывали эпизоотологические данные, клинические

признаки и результаты вскрытия. В ветеринарной лаборатории диагнозы подтверждены бактериологическим исследованием, а также исследованием сыворотки крови от заболевших животных методом иммуноферментного анализа.

## Результаты исследования

У животных при колибактериозе обнаружены следующие патологоанатомические изменения: острый катаральный энтерит, воспаление брыжеечных лимфатических узлов (рис. 1). В слизистой оболочке донно-



Рис. 1. Колибактериоз. Катаральный энтерит.



Рис. 2. Колибактериоз. Венозное полнокровие донного отдела желудка.



Рис. 3. Анаэробная дизентерия. Гиперемия и утолщение петель тонкой кишки.



Рис. 4. Анаэробная дизентерия. Фибринозный энтерит.



Рис. 5. Сальмонеллез. Дифтеритический колит.



Рис. 6. Сальмонеллез. Спленит.



Рис. 7. Лавсониоз. Подвздошная кишка.



Рис. 8. Лавсониоз. Слепая кишка.

го отдела желудка – ограниченный участок красного или темно-красного цвета (рис. 2) в силу венозного полнокровия. В печени, почках, миокарде – зернистая дистрофия.

При вскрытии поросят с диагнозом анаэробная дизентерия характерные патологоанатомические изменения были обнаружены в основном в тонкой кишке, в меньшей степени – в толстой. Измененные петли кишки – красного или темно-красного цвета (рис. 3, 4), стенка была утолщена и легко рвалась, у отдельных поросят была пронизана пузырьками газа. Слизистая оболочка – в состоянии геморрагического и фибринозного воспаления (рис. 4). В просвете кишки – жидкое кровянистое содержимое. Отмечен очаговый фибринозно-геморрагический перитонит. Серозная оболочка кишки, участки париетальной брюшины были шероховатые, покрыты тонкими, желтовато-серыми или красновато-серыми пленками фибрина. Брыжеечные лимфатические узлы увеличены, сочные, красные на разрезе. В брюшной полости наблюдалось скопление красной мутноватой жидкости. Имели место отек легких, зернистая дистрофия печени, почек, миокарда.

При сальмонеллезе у поросят находили очаговый, реже диффузный, дифтеритический колит (энтероколит) (рис. 5), воспаление многих лимфоузлов, в том числе брыжеечных, заглочных, нижнечелюстных, с наличием в них очагов некроза, увеличение и уплотнение селезенки (рис. 6), лобулярную пневмонию, мелкие некротические очажки в печени.

При пролиферативной энтеропатии (лавсониозе) характерные изменения были най-

дены в подвздошной и слепой кишках. В измененных участках слизистая оболочка была сильно утолщена, имела крупные нерасправляемые складки (рис. 7, 8). Брыжеечные лимфатические узлы были увеличены, уплотнены и гиперемированы. Диагноз на лавсониоз уточняли исследованием сыворотки крови от заболевших животных методом иммуноферментного анализа.

### Обсуждение результатов

Патологоанатомические изменения, установленные при вскрытии, достаточно типичны для изучаемых болезней; они дают возможность по результатам вскрытия провести первичную дифференциальную диагностику колибактериоза, анаэробной дизентерии, сальмонеллеза, а также пролиферативной энтеропатии свиней.

Так, для сальмонеллеза характерны фибринозный энтероколит, пневмония, некротические очажки в лимфатических узлах и печени, для колибактериоза – острый катаральный энтерит.

Для анаэробной дизентерии характерны фибринозно-геморрагический, некротизирующий энтерит (энтероколит), перитонит.

Для пролиферативной энтеропатии (лавсониоза) типичны утолщение слизистой оболочки и образование складок в подвздошной и слепой кишках. Эти данные подтверждаются публикациями других исследователей пролиферативной энтеропатии [5].

### Заключение

Первичная дифференциальная диагностика колибактериоза, анаэробной дизен-

Таблица 1.

## Дифференциальная диагностика септических протекающих инфекционных болезней свиней

Болезнь	Заболееваемость	Возраст	Типичные клинические признаки	Характерные патолого-анатомические изменения	Патоматериал, метод точной диагностики
1	2	3	4	5	6
Классическая чума	до 100 %	все	Конъюнктивит, крупноточечные кровоизлияния в коже	Мраморность лимфоузлов, инфаркты в селезенке, чумные бутоны в толстой кишке	Лимфоузлы; ПЦР вирусологическое исследование
Африканская чума	до 100 %	все	Конъюнктивит, крупноточечные кровоизлияния в коже	Лимфоузлы имеют вид гематом, септическая селезенка	Лимфоузлы; ПЦР вирусологическое исследование
Рожа	спорадически	2–12 мес.	Цианоз кожи, слизистых оболочек, кожная эритема в виде ромбов, прямоугольников (крапивница)	Увеличение селезенки, застойная гиперемия желудка, кровоизлияния в почках, эндокардит	Паренхиматозные органы, трубчатая кость, бактериологическое исследование
Пастереллез	спорадически, реже энзоотически	2–4 мес.	Отеки в области головы, шеи, кашель	Шейный лимфаденит, фибринозная пневмония	Лимфоузлы, легкие; бактериологическое исследование
Сальмонеллез	спорадически и энзоотически	2–4 мес.	Кашель, диарея	Фибринозный энтероколит, некрозы в лимфоузлах, печени, селезенке	Лимфоузлы, толстая кишка; бактериологическое исследование
Актинобациллезная плевропневмония	спорадически и энзоотически	2–5 мес	Конъюнктивит; кровянистые выделения из носа	Фибринозно-геморрагическая некротизирующая плевропневмония	Легкое; бактериологическое исследование
Гемофилезный полисерозит	спорадически и энзоотически	1–3 мес.	Артриты	Серозно-фибринозный полисерозит, артриты	Экссудат из полостей и паренхиматозные органы, бактериологическое исследование

терии, сальмонеллеза и пролиферативной энтеропатии может быть проведена в условиях свиноводческого комплекса по результатам вскрытия, что дает возможность быстро определить вероятную причину падежа и выбрать соответствующие способы лечения и профилактики. Для подтверждения патологоанатомического диагноза следует провести бактериологическое исследование участков кишечника, а также паренхиматозных органов. Кроме этого, для подтверждения диагноза пролиферативной энтеропатии следует направлять сыворотку крови от животных для исследования методом иммуноферментного анализа.

## Список литературы

1. Гречухин, А. Н. Практическое руководство по ветеринарным обработкам в свиноводческих хозяйствах / А. Н. Гречухин. – СПб., 2010. – 408 с.
2. Кудряшов, А. А. Патологоанатомическая дифференциальная диагностика респираторных болезней свиней в промышленном комплексе / А. А. Кудряшов, Т. П. Максимов, В. И. Балабанова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2013, № 2 (18). – С. 56–60.
3. Пейсак, З. Болезни свиней / З. Пейсак. – Брест, 2008. – 424 с.
4. Chouet, S. Patterns of exposure to *Lawsonia intracellularis* infection on European pig farms / S. Chouet, C. Prieto et al. // Vet Rec. – 2003, 152. – P. 14–17.
5. McOrist, S. Пролиферативная энтеропатия свиней. Техническое руководство 3.0 / Steven McOrist, Torsten Hardge et al. ; редакция перевода С. А. Кукушкин. – М. : Берингер Ингельхайм, 2011. – 158 с.

реклама

## ИНТЕРНЕТ-МАГАЗИН КНИГ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНЫХ СПЕЦИАЛИСТОВ



[www.invetbio.spb.ru/form\\_zakaz\\_knigi.htm](http://www.invetbio.spb.ru/form_zakaz_knigi.htm)

URINARY S/O

ROYAL CANIN

# Ветеринарные диеты Royal Canin URINARY

ew1212d

**Новая ветдиета Royal Canin URINARY Olfactory Attraction\*** с оригинальным ароматическим комплексом подходит кошкам с преимущественным предпочтением выбирать корм по его запаху. Теперь Royal Canin предлагает широкую линейку ветдиет при заболеваниях нижнего отдела мочевыделительной системы, которые могут удовлетворить самые разные пищевые предпочтения различных кошек, а также поддерживают массу тела на оптимальном уровне.

\* «Роял Канин УРИНАРИ Олфактори Эттрекшн».

Перед применением проконсультируйтесь с ветеринарным врачом.

**Индивидуальный подход в питании**  
для поддержания здоровья  
мочевыделительной системы



ПРИСОЕДИНЯЙТЕСЬ К КЛУБУ  
[MY.royal-canin.ru](http://MY.royal-canin.ru)

Круглосуточная горячая линия:  
**8 (800) 200 37 35**  
(для всех регионов России звонок бесплатный)

royal-canin  
.ru

**26–29** НОЯБРЯ  
2014 ГОДА



ufi  
Approved  
Event

# XXIII МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА ТОВАРОВ И УСЛУГ ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ **ЗООСФЕРА**

*Крупнейшая выставка в России и Восточной Европе  
250 участников из 21 страны, более 15 000 посетителей*

НЕ ПРОСПАТЬ БЫ  
**ВЫСТАВКУ...**  
ТАМ БУДЕТ МНОГО  
**НОВИНОК!**

Do!

- Ветеринарная конференция
- Международный конкурс грумеров
- Галерея новинок
- Съезд владельцев клубов и питомников



[www.zoosphere.expoforum.ru](http://www.zoosphere.expoforum.ru)

реклама

0+

  
EXPOFORUM

**Место проведения:**  
Конгрессно-выставочный центр «ЭКСПОФОРУМ»  
Россия, Санкт-Петербург, пос. Шушары  
Пулковское отделение, 44 лит. А, павильоны 1, 2  
+7 812 240 40 40, доб. 230, 257, 258  
[s.hansen@expoforum.ru](mailto:s.hansen@expoforum.ru)



В ритме моря 

# IX СОЧИНСКИЙ 11-13 ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФЕСТИВАЛЬ сентября

реклама



Дорогие друзья, приглашаем вас посетить IX Сочинский Ветеринарный Фестиваль!

В меню Фестиваля – большая порция аппетитных знаний от поваров ветеринарного искусства, горячительный аперитив в виде развлекательной программы и бесподобный гала-ужин от шеф-поваров Фестиваля!

## ГДЕ

г. Сочи, санаторий «Южное Взморье» ([www.uvzmoreie.ru](http://www.uvzmoreie.ru)) – один из лучших санаториев черноморского побережья!

## ЧТО В ПРОГРАММЕ

Три лекционных дня, финал конкурса «История болезни», море, развлечения, гала-ужин, морская вечеринка!

**Тематика лекций:** дерматология, эндокринология, нефрология, стоматология, кардиология, инфекционные заболевания, анестезиология, гастроэнтерология.

По итогам Фестиваля выдается **сертификат**, который идет в зачет часов Программы последипломного образования ветеринарных специалистов.

## СКОЛЬКО СТОИТ

Участие в Фестивале – **бесплатное!**

На проживание и питание предусмотрены **специены** для гостей Фестиваля: **2850 руб./сутки** за проживание в двухместном номере с трехразовым питанием (вместо 5050 руб.)!

## Ждем вас в Сочи!

Посетите сайт Фестиваля: [www.vetseminar.ru/sochi](http://www.vetseminar.ru/sochi)

Страница мероприятия ВКонтакте: [www.vk.com/sochi\\_vf](http://www.vk.com/sochi_vf)

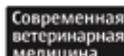
Партнеры:



Официальные спонсоры:



Генеральный информационный спонсор:



Спонсоры:



Информационные спонсоры:



Организатор:



Россия, 111399, Москва,  
Федеративный пр-т, д. 9, корп. 2  
+7 495 989-43-70

[info@vetseminar.ru](mailto:info@vetseminar.ru)  
[www.vetseminar.ru/sochi](http://www.vetseminar.ru/sochi)

## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЖУРНАЛА «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»

Важным условием для принятия статей в журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» является их соответствие нижеперечисленным правилам. При наличии значительных отклонений от них направленные материалы рассматриваться не будут. В этом случае редакция обязуется оповестить о своем решении авторов не позднее чем через 1 месяц со дня их получения. Оригиналы и копии присланных статей авторам не возвращаются. Материалы должны присылаться по электронной почте: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru). Электронный вариант статьи рассматривается как оригинал, в связи с чем авторам рекомендуется перед отправкой материалов в редакцию проверить соответствие текста на цифровом носителе распечатанному варианту статьи. Кроме того, материалы для публикации можно передать в редакцию по адресу: С.-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б. Тел. (812) 232-55-92. Факс (812) 232-88-61.

### Подготовка материалов

Статья может содержать до 10 машинописных страниц (18 тыс. знаков с пробелами), не считая рисунков, таблиц и списка литературы. Электронный вариант статьи должен быть подготовлен в виде файла в формате .doc для ОС Windows и содержать текст статьи и весь иллюстративный материал (фотографии, графики, таблицы) с подписями.

Таблицы и диаграммы должны быть выполнены в один цвет – черный, без фона.

Автор должен представить каждое изображение в отдельном файле в оригинальном размере (при обработке изображений в графических редакторах необходимо учесть, что для офсетной печати не подходят изображения с разрешением менее 300 dpi и размером менее 945 px по горизонтали).

Текст статьи должен быть набран шрифтом Times New Roman, 12 пт, без форматирования (стиль «Обычный»). Нумерованные и нумерованные списки формируются без применения автоформатирования (вручную)

с использованием арабских цифр или символа «-» соответственно.

В статье желательно использование не более 3–5 нетрадиционных сокращений для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте. Эти сокращения вводятся в круглых скобках после первого полного названия термина. В тех случаях, когда используемая аббревиатура узаконена международной классификацией, ее следует использовать в соответствующей транскрипции. Например, для сокращения термина «интерлейкин» должна быть использована аббревиатура в соответствии с международной номенклатурой «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Запрещается вводить какие-либо сокращения в название статьи. Названия микроорганизмов должны быть приведены в оригинальной транскрипции (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения должны быть приведены без точки после их сокращенного обозначения (см, мл, г, мг, kDa и т. д.). При использовании условных обозначений следует иметь в виду, что в процессе подготовки журнала к верстке символы, полученные с использованием нетипичных шрифтов ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и пр.), а также некоторые специальные символы форматирования ( $\bullet$ ,  $\rightarrow$ ,  $\Rightarrow$ , ...) могут неверно интерпретироваться.

При изложении материала следует придерживаться стандартного построения научной статьи:

1. Введение.
2. Материалы и методы.
3. Результаты исследований.
4. Обсуждение результатов.
5. Заключение (выводы).
6. Список литературы.

Статья должна представлять собой законченное исследование.

Заключение (выводы) должно быть четким, конкретным, вытекать из результатов и обсуждений результатов исследования и соответствовать цели работы и поставленным задачам.

Ссылки на первоисточники расставляются по тексту в цифровом обозначении в квадратных скобках. Номер ссылки должен соответ-

ствовать цитируемому автору. Цитируемые авторы располагаются в разделе «Список литературы» в алфавитном порядке (русские, затем зарубежные). Представленные в «Списке литературы» ссылки должны быть полными, и их оформление должно соответствовать действующему ГОСТу. Количество ссылок должно быть не более 10 – для оригинальных статей, 30 – для обзоров литературы.

К материалам статьи также обязательно должен быть приложен 1 экземпляр сопроводительного письма на имя главного редактора журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» Чуваева И. В. Письмо должно содержать:

1. Фамилию, имя, отчество каждого автора статьи с указанием названия учреждения, где работает автор, его должности, научных степеней, званий и контактной информации на русском языке.

2. Фамилию, имя, отчество каждого автора статьи с указанием названия учреждения, где работает автор, его должности, научных степеней, званий и контактной информации на английском языке.

3. Фамилию, имя, отчество автора, ответственного за дальнейшую переписку с указанием предпочтительного способа связи.

4. Полное название статьи на русском языке.

5. Название статьи на английском языке.

6. Аннотацию статьи на русском языке (не более 250 слов).

7. Аннотацию статьи на английском языке.

8. УДК.

9. Ключевые слова (до 5) на русском языке.

10. Ключевые слова на английском языке.

11. Количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц.

12. Дату отправки материалов.

13. Подписи всех авторов.

### **Авторские права**

Авторы должны гарантировать, что поданные в журнал материалы не были ранее опубликованы. Авторы должны быть согласны с автоматическим переходом их авторских прав к журналу «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» в момент принятия статьи к печати. С этого момента весь приведенный в статье материал не может быть

опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением могут являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации, книги или монографии.

### **Оплата за публикацию статей**

При соблюдении всех вышеперечисленных правил, рецензирование статьи и ее публикация в журнале «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) за большое количество иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций); 3) за размещение рекламной информации; 4) при повторной подаче материала в редакцию, в случае если статья (по результатам рецензирования) была отправлена автору на доработку.

### **Рецензирование статей**

Все материалы, подаваемые в журнал, проходят рецензирование. Рецензирование статей проводят ведущие профильные специалисты (доктора наук, кандидаты наук). По результатам рецензирования редакция журнала принимает решение о возможности публикации данного материала: принять к публикации без изменений; принять к публикации с корректурой и изменениями, предложенными рецензентом или редактором (согласуется с автором); отправить материал на доработку автору (значительные отклонения от правил подачи материала; вопросы и обоснованные возражения рецензента по принципиальным аспектам статьи); отказать в публикации (полное несоответствие требованиям журнала и его тематике; наличие идентичной публикации в другом издании; явная недостоверность представленных материалов; явное отсутствие новизны, значимости работы и т. д.)

Рецензированию не подлежат материалы, представленные или написанные в соавторстве с действительными членами или член-корреспондентами АН, РАСХН, РАЕН.

## ПОДПИСКА НА ЖУРНАЛ «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»

Подписной индекс в каталоге «Газеты. Журналы» – 33184, «Пресса России» – 29447.

Юридические и физические лица, желающие получать наш журнал постоянно, могут оформить подписку непосредственно в редакции журнала (Санкт-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б) или по e-mail (virclin@mail.ru): направьте бланк заказа (в произвольной форме, с точным почтовым адресом получателя с индексом и контактным телефоном для уточнения информации) и копию документа об оплате. Журнал подписчикам будет доставляться заказной бандеролью.

Стоимость подписки на 2014 г. (четыре номера): для юридических и физических лиц – 1600 руб., для подписчиков из ближнего зарубежья – 1800 руб.

**Юридические лица** для получения счета на оплату подписки и других необходимых

документов могут обращаться по телефонам: (812) 232-55-92, 927-55-92 или по e-mail: virclin@mail.ru к главному бухгалтеру.

**Физические лица** могут оплатить стоимость подписки:

- в любом банке (для получения образца заполненной квитанции обращайтесь по e-mail: virclin@mail.ru);
- через платежную систему Яндекс-деньги: счет для оплаты 41001182195695 (в сообщении следует указать «Подписка на «АВВБ-2014», Ф.И.О. и почтовый адрес).

Полная информация о подписке на журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» – на сайте [http://www.invetbio.spb.ru/journal/vb\\_podpiska.htm](http://www.invetbio.spb.ru/journal/vb_podpiska.htm).

## ПРИБРЕТЕНИЕ ЖУРНАЛА «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»

Вы можете заказать любой из предыдущих номеров журнала по тел.: (812) 927-55-92, или по e-mail: virclin@mail.ru, и мы вышлем Вам его наложенным платежом. Стоимость 1 экз. журнала выпуска до 2013 года – 200 руб., 2013 года – 400 руб., 2014 года – 500 руб. (без учета почтовых расходов).

## АРТРОГЛИКАН (ARTROGLYCAN)

хондропротектор нового поколения, геронтологический препарат для собак, кошек, хорей, крыс

Выпускается в форме таблеток по 0,7 г. В состав препарата входят: глюкозамина гидрохлорид (100 мг); хонroitина сульфат (200 мг); витамин Е (20 мг); селенометионин (50 мг); органическая форма кальция (100 мг).

### Фармакологическое действие

Артрогликан обладает хондропротекторным, умеренно анальгезирующим, противовоспалительным действиями, антиоксидантной активностью; укрепляет стенки капилляров.

Препарат стимулирует процессы регенерации и замедляет дегенерацию хрящевой ткани; способствует восстановлению суставной сумки и хрящевых поверхностей суставов; улучшает подвижность суставов; участвует в построении основного вещества костной и хрящевой ткани. Артрогликан участвует в синтезе протеогликанов и гиалуроновой кислоты, стимулирует образование хондроитинсерной кислоты, нормализует отложение кальция в костной ткани.

Препарат препятствует развитию дегенеративно-дистрофических изменений в сердечной мышце и скелетной мускулатуре; обладает гепатопротекторными свойствами.

Артрогликан восполняет дефицит витамина Е, кальция и селена.

### Показания

Дегенеративные заболевания суставов и позвоночника, первичный артроз, межпозвоночный остеохондроз, остеоартрит, остеоартроз, спондилез, остеопороз, дисплазия суставов. Для улучшения качества жизни собак, кошек, крыс и хорьков старшей возрастной группы. Дополнительная информация: [www.invetbio.spb.ru/farma/artroglycan.htm](http://www.invetbio.spb.ru/farma/artroglycan.htm)

### Заказ Артрогликана

в Екатеринбурге: ЗАО «Уралбиовет», т. (343) 345-34-34, 345-34-37, 345-34-38;

в Тюмени: ЗАО «Айболит», т. (3452) 33-58-65, 33-97-81;

в Москве: ООО «АС-Маркет», т. (498) 696-00-10; ООО «ЗооВетКом», т. +7 926 369-70-55;

ЗАО «ВетИмпэкс», т. (495) 786-97-81, 786-97-82; ООО «ВЕТМАРКЕТ», т. (495) 777-60-81,

777-61-06; ООО «Торговый Дом «Гама-Маркет», т. (499) 190-72-41;

у производителя (от одной банки/пачки): ООО «Биоцентр «ЧИН», т. + 7 921 350-92-53;

e-mail: [investbio@mail.ru](mailto:investbio@mail.ru)

