

neurons is observed, on the 30–45th day of the experiment the numerical density of neurons partially recovers at the expense of the compensatory mechanism of developing adaptation syndrome, since the 45–60th day there is a repeated decrease in the total numerical density of neurons and the transition of adaptation syndrome to decompensation stage, on the 60th–90th day the acute process becomes chronic and the total numerical density of neurons decreases. Rearrangement characteristic is selectivity in damaging hippocamp. Degenerative changes take place in all the sectors, there being the maximal numerical density of irreversibly altered, shriveled, focally missed out, hyperchromatic neurons in CA3 sector and the developed pace-maker dominant zone of generalized excitation in CA1 sector of the experimental animals' hippocamp. The complex methodical approach employed allowed to obtain a complete quantitative and qualitative characteristic of neurons and interneuron synapses, that of brain limbic structures examined and hippocamp sectors.

УДК 619:616–006]:636.7

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ЛЕЙКОГРАММЫ ПРИ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У СОБАК

Д. А. Мешерякова, магистрант

М. А. Дерхо, доктор биологических наук, профессор

Т. И. Середа, кандидат биологических наук, доцент

Уральская государственная академия ветеринарной
медицины

E-mail: tvi_t@mail.ru

Ключевые слова: опухоль, кровь, лейкограмма, собаки, молочная железа

Реферат. Изучено влияния экологических условий обитания собак на наличие связи между количеством лейкоцитарных клеток в периферической крови и стадией опухоли при новообразованиях молочных желез. Установлено, что в организме собак с опухолями молочных желез (ОМЖ) в I стадии развития наблюдается лейкопения, в III стадии – лейкоцитоз, а в IV стадии уровень лейкоцитов колеблется в пределах нормы. Стадия развития ОМЖ влияла и на процентную долю клеток в лейкограмме. При I стадии развития опухоли показатели лейкоформулы колебались в пределах нормы, за исключением уровня эозинофилов, превышающего верхнюю границу на 49,3%; III стадия опухолевого процесса характеризовалась перераспределением лейкоцитарных клеток в лейкограмме в рамках нормы и только на IV стадии развития ОМЖ были отмечены нейтрофильный лейкоцитоз с дегенеративным сдвигом «влево», эозинофилия и лимфоцитопения. Сенсибилизирующее действие опухоли и опухолевых антигенов на организм сук отражала величина эозинофильного индекса (ЭИ) и индекса аллергизации (ИА). Прогрессирование опухолевого роста сопровождалось увеличением значения ЭИ и уменьшением ИА.

Морфологический состав крови отражает уровень здоровья в организме животных, характеризует сдвиги в функциональной активности органов и тканей, возникающие на фоне развития разнообразных патологических процессов. Новообразования также не являются исключением.

Однако, несмотря на многочисленные исследования, алгоритм изменений в клеточном составе крови в ходе развития опухолей до сих пор не установлен. Так в гуманной медицине считается, что морфологический состав крови не характеризует процесс опухолевого роста на ранних стадиях развития новообразований. Лишь при вовлечении в патологический процесс регионарных лимфоуз-

лов развивается лимфоцитопения, а при генерализации процесса – эозинофилия и моноцитоз [1].

При злокачественных новообразованиях домашних животных сдвиги в клеточном составе крови обычно связывают с локализацией опухоли (анатомическим метонахождением). Однако и в этом случае имеются противоречивые сведения. Например, Н. Б. Постоев [2] установил, что кожные опухоли у собак сопровождаются незначительным лейкоцитозом с сохранением параметров лейкограммы в пределах границ физиологической нормы. В то же время О. А. Куцина [3] отмечала, что изменениями клеточного состава крови не сопровождаются только локально инфильтрирующие опухоли кожи собак, а опухоли кожи с вы-

сокой малигнизацией (например, лимфосаркомы) характеризуются лейкопенией и лимфопенией.

Рост опухолей ротовой полости у собак протекает на фоне реакции органов лейкопоза в пределах границ нормы [4, 2], а злокачественные опухоли молочных желез сопровождаются лейкоцитозом, эозинофилией и лимфоцитопенией, выраженность которых нарастает по мере их развития [5, 6].

Таким образом, проблема сопряженности процесса развития злокачественной опухоли и её агрессивности с реакцией со стороны органов кроветворения у животных является до сих пор открытой. Однако её решение позволило бы использовать клинический анализ крови в постановке предварительного диагноза, в установлении пролиферации и генерализации процесса, прогнозировании исхода и т.д.

В связи с этим целью нашей работы явилась оценка влияния экологических условий обитания собак на наличие связи между количеством лейкоцитарных клеток в периферической крови и стадией опухоли при новообразованиях молочных желез.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальная часть работы выполнена в 2012–2013 гг. на базе ОГБУ «Озерская городская ветеринарная станция по борьбе с болезнями животных» (г. Озерск, Челябинская область), кафедре органической, биологической и физколлоидной химии ФГБОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины».

Объектом нашего исследования было 50 собак разных пород, но чаще – пудели, боксеры, коккер-спаниели и метисы со спонтанными злокачественными опухолями молочных желез (ОМЖ). Возраст животных колебался от 5 до 13 лет. Диагноз ставили на основании анамнестических, клинических данных и результатов дополнительных методов обследования. Собаки были разделены на три группы в зависимости от стадии развития опухоли. Для определения стадии злокачественных ОМЖ использовали систему TNM [2]. В 1-ю опытную группу были подобраны животные, у которых состояние опухолевого узла соответствовало I стадии (T1N0M0; опухоль до 3 см, регионарные лимфоузлы не увеличены, отдаленные метастазы не найдены); во 2-ю – III стадии (T1N1M0; опухоль до 3 см, регионарные лим-

фоузлы (чаще паховые) увеличены, отдаленные метастазы не обнаружены) и в третью – IV стадия (T3N1M1; опухоль более 5 см, регионарные лимфоузлы увеличены, найдены отдаленные метастазы).

Материалом для исследований служила кровь, в которой было определено общее количество лейкоцитов и лейкограмма на гематологическом анализаторе Abacus Vet. На основании полученных данных были рассчитаны:

1. Эозинофильный индекс по формуле:

$$\text{ЭИ} = \frac{(\text{ПН} + \text{СН}) - \text{ЭОЗ}}{(\text{ПН} + \text{СН}) + \text{ЭОЗ}}.$$

2. Индекс алергизации по формуле:

$$\text{ИА} = \frac{\text{ЛИМ} + 10 \cdot (\text{ЭОЗ} - 1)}{(\text{СН} + \text{ПН} + \text{МОН})},$$

где ПН, СН, ЭОЗ, ЛИМ, МОН – концентрация палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов, моноцитов, % [7].

Экспериментальный цифровой материал был подвергнут статистической обработке на ПК с помощью табличного процессора Microsoft Excel – 2003 и пакета прикладных программ «Биометрия». Достоверность различий между группами оценивали с учетом непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Местом обитания собак опытных групп служил г. Озерск Челябинской области, расположенный в пределах Восточно-Уральского радиоактивного следа и представляющий собой административное территориально закрытое образование, в котором работает атомное предприятие (ПО «Маяк»), занимающееся переработкой облученного ядерного топлива и производством радиоактивных изотопов [7]. Данные факторы определяли экологические условия среды обитания животных и, соответственно, уровень онкологической заболеваемости.

Так, по данным регистрационных журналов ОГБУ «Озерская городская ветеринарная станция по борьбе с болезнями животных» в 2012–2013 гг. онкологические заболевания у собак составили более 30% от всех видов патологий, среди которых наиболее часто встречались опухоли молочной железы. Большинство новообразований локализовалось в 3, 4 и 5-й парах молочных желез. Следовательно, для г. Озерска характерен высо-

кий уровень онкозаболеваемости не только человека [8], но и животных.

Анализ результатов исследования морфологического состава крови показал, что в крови собак 1-й опытной группы, у которых опухоли имели узловатую форму роста без видимого прорастания в окружающие ткани и метастазирования, общее количество лейкоцитов было снижено

до $4,95 \pm 0,27 \cdot 10^9/\text{л}$. При вовлечении в патологический процесс регионарных лимфоузлов, чаще паховых (2-я опытная группа), уровень лейкоцитов повышался и незначительно превышал верхнюю границу нормы. Однако метастазирование опухоли протекало на фоне нормального содержания клеток в крови собак (3-я опытная группа) (табл. 1).

Таблица 1

Лейкограмма собак опытных групп, $\bar{x} \pm S\bar{x}$

Группа	Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	Лейкограмма, %					
		нейтрофилы		эозинофилы	базофилы	лимфоциты	моноциты
		палочко- ядерные	сегменто- ядерные				
1-я (n = 10)	$4,95 \pm 0,27$	$3,18 \pm 0,22$	$57,00 \pm 0,41$	$13,44 \pm 0,34$	0,00	$25,38 \pm 0,46$	$1,00 \pm 0,11$
2-я (n = 28)	$10,87 \pm 0,37^*$	$4,00 \pm 0,34$	$67,37 \pm 0,67$	$5,32 \pm 0,16^*$	0,00	$22,28 \pm 1,04$	$1,03 \pm 0,39$
3-я (n = 12)	$7,65 \pm 0,47$	$9,02 \pm 0,21^*$	$75,02 \pm 0,26^*$	$1,27 \pm 0,28^*$	0,00	$12,37 \pm 0,24^*$	$2,32 \pm 0,36$
Норма	8,5–10,5	1–6	40–71	2–9	0–1	21–40	1–5

Примечание. Норма – по М. А. Медведевой [8]. * $P > 0,05$ по отношению к 1-й группе.

Следовательно, общее количество лейкоцитов в периферической крови, а также сопротивляемость организма определялись стадией развития опухолевого процесса в молочных железах собак. Так, опухоли типа T1N0M0 (I стадия ОМЖ) обнаруживались у собак в состоянии иммунодефицита, а типа T1N1M0 (III стадия ОМЖ) – на фоне стимуляции реактивности организма, вероятно, за счёт вовлечения в патологический процесс регионарных лимфоузлов.

Процентная доля лейкоцитарных клеток в лейкограмме также зависела от стадии развития ОМЖ. При I стадии (1-я группа) показатели лейкоцитарной формулы колебались в пределах нормы, за исключением уровня эозинофилов, превышающих верхнюю границу на 49,3 %. Опухолевый процесс III стадии (2-я группа) по сравнению с I характеризовался увеличением уровня палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов и уменьшением – эозинофилов и лимфоцитов. Однако

данные сдвиги происходили в рамках границ нормы. Только на IV стадии развития ОМЖ (3-я группа) изменения в лейкограмме были значительны: увеличивалась доля палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов (нейтрофильный лейкоцитоз с дегенеративным сдвигом «влево») и уменьшалась – лимфоцитов и эозинофилов (см. табл. 1).

Следовательно, процессы метастазирования опухоли характеризовались снижением способности организма сук опосредовать реакции «антиген–антитело» (маркер – лимфоциты), усилением активности фагоцитоза (нейтрофилы), уменьшением антитоксических свойств крови (эозинофилы), несмотря на физиологический уровень общего количества лейкоцитов. Возможно, экологические особенности среды обитания животных оказывали влияние на характер реакции со стороны органов лейкопоза, сохраняя общую закономерность [6, 9, 10] – генерализация процесса протекает на фоне лимфоцитопении.

Таблица 2

Индексы эозинофилов, $\bar{x} \pm S\bar{x}$

Индекс, усл. ед.	Группа		
	1-я (n = 10)	2-я (n = 28)	3-я (n = 12)
Эозинофильный	$0,63 \pm 0,01$	$0,86 \pm 0,007$	$0,97 \pm 0,008^*$
Аллергизации	$2,45 \pm 0,15$	$0,90 \pm 0,05^*$	$0,17 \pm 0,03^*$

* $P > 0,05$ по отношению к 1-й группе.

Особо хотелось бы обратить внимание на то, что метастазирующие опухоли подавляли в организме собак развитие реакций гиперчувствительности, хотя прогрессирование их роста обязательно

но сопряжено с травматизацией окружающих клеток, тканей и образованием большого количества метаболитических антигенов. С целью оценки причин эозинопении при IV стадии развития ОМЖ

мы рассчитали эозинофильный индекс и индекс аллергизации (табл. 2).

В крови собак при I стадии ОМЖ (1-я группа) эозинофильный индекс составил $0,63 \pm 0,01$ усл. ед. Опухолевый рост сопровождался повышением значения ЭИ на 36,5 (2-я группа) и 53,9% (3-я группа) ($P > 0,05$) за счёт снижения в крови количества эозинофилов и повышения – нейтрофилов, свидетельствуя об угнетении реакций сенсебилизации и активации фагоцитарных процессов в организме животных. Это подтверждалось достоверным уменьшением индекса аллергизации в зависимости от стадии ОМЖ ($P > 0,05$) (см. табл. 2). Значит, вовлечение в патологический процесс регионарных лимфоузлов и метастазирование опухоли, несмотря на нарастание степени повреждения клеток организма собак, характеризуется угнетением синтеза/выделения медиаторов аллергических реакций под воздействием опухолевых клеток и продуктов их жизнедеятельности. Вероятно, это является результатом недостаточ-

ного количества лимфоцитов в периферической крови животных и, соответственно, иммуноглобулинов, особенно IgE.

ВЫВОДЫ

1. Общее количество лейкоцитов в крови сук при опухолях молочных желез определяется стадией развития процесса. Для I стадии (T1N0M0) характерна лейкопения; III стадии (T1N1M0) – лейкоцитоз и IV стадии (T3N1M1) – нормальное содержание лейкоцитов.
2. Показатели лейкограммы не соответствуют границам нормы при I и IV стадиях развития ОМЖ, что проявляется соответственно в виде эозинофилии, лимфопении, эозинопении и нейтрофилии.
3. Величина эозинофильного индекса (ЭИ) и индекса аллергизации (ИА) зависит от стадии опухолевого процесса.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Злокачественные опухоли челюстно-лицевой области* / И. М. Федяев, И. М. Байриков, Л. П. Белова, Т. В. Шувалова. – М.: Мед. книга; Н. Новгород: НГМД, 2000. – С. 23–25.
2. *Постоев Н. Б.* Морфологическая оценка новообразований кожи у собак при разных способах лечения: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Благовещенск: ДГАУ, 2009. – 24 с.
3. *Куцина О. А.* Клинико-гематологические, цито- и патоморфологические изменения при опухолевых заболеваниях домашних животных: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – М.: МГАВМиБ им. К. И. Скрябина, 2008. – 23 с.
4. *Дивисенко К. В.* Новообразования органов ротовой полости у собак (распространение, морфология, состояние иммунологической системы): автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Саратов: СГАУ им. Н. И. Вавилова, 2009. – 22 с.
5. *Бибина И. В.* Сравнительная оценка полихимиотерапевтического метода лечения неоплазий молочных желез сук: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Саратов: СГАУ им. Н. И. Вавилова, 2011. – С. 13–16, 20.
6. *Дерхо М. А., Концевая С. Ю.* Некоторые аспекты лабораторного анализа при опухолях молочной железы // Вет. клиника. – 2009. – № 11. – С. 14–18.
7. *Лебедева О. В.* Эпидемиология токсокароза в Санкт-Петербурге: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2006. – 23 с.
8. *Каплунович А. П., Важеннин А. В., Доможирова А. С.* Влияние среды обитания человека на риск возникновения онкологических заболеваний // Безопасность жизнедеятельности в третьем тысячелетии: сб. материалов IV Междунар. науч.-практ. конф. – Челябинск: ЮУрГУ, 2009. – Т. 2. – С. 238–240.
9. *Медведева М. А.* Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: Аквариум-Принт, 2008. – 416 с.
10. *Гаранин Д. В.* Онкология собак и кошек: конспект лекций. – Екатеринбург, 2004. – С. 4–5.

ESTIMATION OF CHANGES IN THE LEUKOGRAM WITH MAMMARY GLAND TUMORS IN DOGS

D. A. Meshcheryakova, M. A. Derkho, T. I. Sereda

Key words: tumor, blood, leukogram, dogs, mammary gland

Summary. The paper examines the influence of ecological conditions in dogs' habitat upon the relationship between the number of periphery blood leukocytic cells and tumor stage in mammary gland new formations. It is established that there is leucocytopenia in the dogs with mammary gland tumor (MGT) at stage I, leukocytosis at stage III and leukocytes level varies within the norm at stage IV. MGT progress stage influenced the percentage portion of cells in leukogram. At MGT progress stage III, leukoformula readings varied within the norm except for eosinophils level exceeding the high value by 49.3%; MGT stage III was characterized by leukocytic cells rearranged within the norm in the leukogram and it was at MGT progress stage IV that neutrophil leucocytosis with «leftward» degenerative shift, eosinophilia and lymphocytopenia were marked. Sensibilizing action of tumor and tumor antigens onto the bitch body reflected the value of eosinophil and allergization indexes (EI and AI). The progress of tumor growth was concomitant with growing EI and declining AI values.

УДК 619:615

ОЦЕНКА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА НЕКРОФАРМ 20

¹Ю. Г. Попов, доктор ветеринарных наук

¹Н. Н. Горб, старший преподаватель

²Н. Б. Емельянова, научный сотрудник

¹Новосибирский государственный аграрный университет

²ООО МНИЦ «ОЗОС»

E-mail: akusherstvo_btr@mail.ru

Ключевые слова: некрофарм 20, токсичность, мыши

Реферат. Проведен опыт по определению острой токсичности препарата-дженерика некрофарм 20, действующим веществом которого является окситетрациклина дигидрат. Исследование проводили на лабораторных животных, использовано 50 белых беспородных мышей, из которых методом случайных чисел сформировали 4 опытные и контрольную группы. Препарат вводили мышам однократно с помощью желудочного зонда в дозах 3600, 3000, 1800, 1200 мг/кг, что соответствует 0,3; 0,25; 0,15 и 0,1 мл на 10 г массы тела животного. Токсическое действие препарата на лабораторных животных при введении в высоких дозах сопровождалось развитием характерной картины отравления и гибелью части подопытных животных. Исследования препарата некрофарм 20 показали, что МПД составляет 1200 мг/кг, LD_{100} —3600, LD_{50} при расчете методом Кербера — 2190 мг/кг. Согласно общепринятой гигиенической классификации, препарат умеренно токсичен для лабораторных животных — относится к веществам III класса опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007–76.

Некрофарм 20 — препарат-дженерик, предназначенный для лечения бактериальных инфекций у молодняка. Действующим веществом препарата является окситетрациклина дигидрат. Он проникает в микроорганизмы путем пассивной диффузии и активного транспорта, требующего энергетического обеспечения. В результате этого внутриклеточная концентрация препарата становится значительно выше, чем внеклеточная. Внутри клетки окситетрациклина дигидрат обратимо связывается с рецепторами 30S-субъединицы бактериальной рибосомы, блокируя связь аминокил-тРНК с акцепторным участком рибосомально-матричного комплекса. Это предотвращает включение новых аминокислот в строящуюся пептидную цепь и нарушает синтез белка. Вспомогательные

вещества (формообразующие, стабилизаторы и др.), введенные в препарат, могут значительно изменять его токсикологические характеристики в сравнении с оригиналом [1, 2].

Целью настоящих исследований является оценка параметров острой токсичности некрофарма 20 при пероральном введении белым мышам.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в соответствии с методическими рекомендациями Фармакологического государственного комитета [3].

Опыт проводили в 2013 г. в виварии ООО МНИЦ «ОЗОС». Для установления параметров