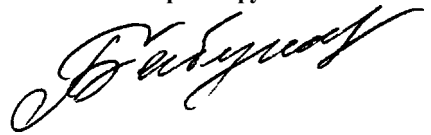


На правах рукописи



Бабушкин Владимир Александрович

**КОРРЕКЦИЯ ОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ У СУК
6% - НЫМ ОЭ-КРАХМАЛОМ И ЭМИ КВЧ-ММ ДИАПАЗОНА**

**16.00.07. - ветеринарное акушерство и биотехника
репродукции животных.**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Саратов 2005 г

Работа выполнена на кафедре акушерства и хирургии ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ» им. Н.И. Вавилова

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук,
профессор Авдеенко Владимир
Семенович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук,
профессор Небогатиков Геннадий
Васильевич
доктор ветеринарных наук, профессор
Нежданов Анатолий
Григорьевич

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Уральская государственная
сельскохозяйственная академия»

Защита состоится 4 июня 2005 года в 12 часов на заседании совета Д 220.061.01 при ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный Университет имени Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, пл. Театральная, 1, тел. (8-452) 69-27-03

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова»

Автореферат р а з о 23 апр. 5 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета



Егунова А.В.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Лечение животных с нарушением течения беременности относится к одной из самых сложных проблем ветеринарного акушерства.

Как отечественные, так и зарубежные авторы достаточно полно изучили гормональные характеристики физиологически протекающей беременности (Нежданов А.Г., 1999).

Вместе с тем недостаточно изучены иммунологические параметры системы "мать-плацента-плод" при возникновении тех или иных нарушений, тем более что исход этих беременностей часто сопровождается осложнениями.

Перспективными и практически не апробированными в акушерской практике в отношении коррегирующего воздействия на беременных остаются физические методы (Авдеенко В.С., 2003). Многообещающими являются попытки применения для коррекции нарушения течения беременности является сочетанное применение препаратов белка, вводимых беременным рег ос в оптимальных дозах с КВЧ-терапией.

Работа выполнена в рамках Гранта (№ Е-0250) Российского Фонда фундаментальных исследований по госконтракту Федеральной целевой программы «Интеграция» Российской академии наук и Министерства образования РФ.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является изучение динамики развития неспецифического иммунитета у плодов и новорожденных собак при осложненной беременности, а также разработка способов ее коррекции.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- выяснить степень иммунологической реактивности у плодов и новорожденных в условиях физиологической беременности;
- изучить особенности развития неспецифического иммунитета у плодов и новорожденных при нарушении течения беременности;
- изучение эффективности 6% раствора оксиэтилированного крахмала (haes-steril фирмы "Fresenius", Германия) в комплексном лечении с КВЧ-терапией «Универсал-М» (ЗАО «МТА-КВЧ») осложненной беременности.

Научная новизна. Изучена степень формирования неспецифического иммунитета у плодов и новорожденных собак при осложненной и неосложненной беременности. Впервые установлены иммунологические показатели, клеточный и белковый состав крови у плодов, новорожденных и растущих щенят. Разработаны методы стимуляции адаптационных механизмов у беременных и плодов при стрессовых воздействиях. Выявлено влияние 6% раствора оксиэтилированного крахмала в комплексе с КВЧ-терапией на морфобиохимические показатели крови, показатели неспецифической резистентности организма при осложненной беременности сук, параметры и методы воздействия КВЧ-мм диапазона.

Практическая значимость. Дано научно-практическое обоснование к использованию в ветеринарной практике ЭМИ КВЧ-мм диапазона для коррекции осложнений беременности у сук в сочетании с 6% раствором окси-

этилированного крахмала.

Апробированы и рекомендованы для практического применения в ветеринарии 6% раствор оксиэтилированного крахмала, дозы, кратность и интервал введения, а также методики применения 7 мм КВЧ-«Универсал-М».

Реализация результатов исследования. Разработана методика применения в ветеринарии 6% раствора оксиэтилированного крахмала и КВЧ-аппарата «Универсал-М». Практические рекомендации внедрены в ветеринарных клиниках различных форм собственности г. Саратова, г. Энгельса, г. Балаково и г. Вольск Саратовской области. Результаты исследований используются в учебном процессе института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГОУ ВПО «СГАУ им. Н.И. Вавилова», Саратовского регионального института переподготовки и повышения квалификации специалистов АПК, а также при проведении тематических семинаров - совещаний с практикующими ветеринарными специалистами.

Апробация результатов исследований. Основные материалы диссертации обсуждены и одобрены на ежегодных научно-практических и учебно-методических конференциях профессорско-преподавательского состава научных сотрудников и аспирантов ФГОУ ВПО «СГАУ им. Н.И. Вавилова» (1998-2004 гг.), материалах III, IV, V Всероссийских научно-практических конференциях практикующих ветеринарных работников (Москва (2002), Санкт-Петербург (2003), Саратов (2005)).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано пять научных работ.

Основные положения, выносимые на защиту.

- результаты исследований по динамике иммунологической реактивности плодов и новорожденных в условиях физиологической и осложненной беременности;
- эффективность 6% раствора оксиэтилированного крахмала в комплексном лечении осложнений беременности у сук КВЧ-терапией.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования служили собаки разных пород и возраста в период с 1998 по 2004 гг. Клинические наблюдения и исследования проводились в ветеринарных клиниках разных форм собственности г. Саратова.

Для изучения формирования механизмов неспецифического иммунитета у плодов и новорожденных в условиях физиологической беременности проведены наблюдения над 164 животными, в том числе 55 плодами 7, 8 и 9-недельного возраста, извлеченными путем чревосечения, 85 новорожденными и растущими щенятами и 24 взрослыми собаками.

Комплекс иммунологических исследований включал изучение содержания нормальных антител, комплемента, бактерицидных и фагоцитарных свойств, а также белкового состава крови. У животных кровь получали методом кардиопункции в количестве 1,6-1,8 мл. Данные, полученные у первично и повторно пунктированных животных в течение первых 4-12 дней жизни, суммировали. Кровь у щенят собирали из пуповины и поверхностных вен те-

ла в количестве 2,5–4 мл. В качестве ашигенов использовали живые дизентерийные бактерии Зонне, патогенные кишечные бактерии серотипа ОШ (026, 055) и токсигенный стафилококк.

Выявление нормальных антител осуществляли непрямым иммунофлуоресцентным методом (Weller a. Coons, 1954), а также методом макро- и микроскопической агглютинации. Глобулины осаждали этанолом по методу Кона (С. Келлер и Р.Блок, 1962). Выявление нормальных агглютининов осуществляли общепринятым объемным способом (в 0,5мл) суточной культурой бактерий и разведениями испытуемой сыворотки от 1:5 до 1:320. Активность комплемента определяли фотоколориметрическим методом в модификации А.Б. Габриловича и С.В. Соболевой (1962) и выражали в единицах 50% гемолиза в 1 мл сыворотки ($\text{CH}_50/\text{мл}$). По серии показаний ФЭК графически находили объем исследуемой сыворотки, уровень комплемента которой вызывал 50% гемолиз. По дозе, вызывавшей 50% гемолиз рассчитывали содержание комплемента в единицах 50% гемолиза в 1 мл сыворотки.

Бактерицидность сыворотки изучали путем смешения 0,04 мл цельной сыворотки и 100000 бактерий в 0,01 мл физиологического раствора. Фагоцитарные свойства лейкоцитов определяли по модифицированному методу Хеддльсона (И.Я. Серебрянский, 1944). Степень завершенности фагоцитоза оценивали по методике В.Г.Л. Бермана и Е.М. Славской (1958).

Общий белок сыворотки определяли рефрактометрическим методом, белковые фракции - методом электрофореза в агаре (Yiri, 1956) с окраской агаровой пленки на бумажной полосе. Одновременно белковые фракции изучали методом иммуноэлектрофореза по П. Грабару и П. Бургэну (1963).

Для контроля за метаболическими изменениями у самок изучали показатели кислотно-щелочного равновесия мочи (рН, титруемая кислотность, титруемая щелочность, аммиак), которую исследовали в периоде нормальной беременности и в процессе ее нарушения.

Наблюдение над новорожденными щенками продолжали до 28-го дня, в течение которого изучали общее состояние, вес, ректальную температуру животных. У павших щенят органы исследовали гистологически. Иммунологическими тестами служили те же исследования, что и у животных с физиологически протекающей беременностью. В опытах использовано 216 собак, в том числе 48 плодов 9-недельного возраста, 135 новорожденных и растущих щенят и 33 взрослых собаки.

Для нарушения нормально текущей беременности в качестве стрессовых ("чрезвычайных") раздражителей использовали усиленный звук автомобильной сирены (93дБ) и низковольтный (20в) переменный электрический ток, которые применяли поочередно в течение 30 и 60 секунд с 30-секундными перерывами в периоде одного часа. Воздействия начинали с 3-й недели беременности и повторяли от 3 до 9 раз с 3-4 дневными интервалами. Электроды накладывали на выбритую наружную поверхность бедра. Опыты начинали утром, натощак. Мочу собирали в лоток посредством рефлекторного опорожнения мочевого пузыря после первого кратковременного (3-5 секунд) электрического воздействия и тотчас исследовали.

Концентрацию водородных ионов в моче определяли потенциометром ЛП-58.

Для определения титруемой кислотности мочи к 10-25 мл свежей мочи прибавляли 2-3 капли 0,5% спиртового раствора фенолфталеина и титровали 0,1 н. раствором NaOH до стойкого слабозеленого окрашивания.

Для определения титруемой щелочности к 10-25 мл мочи прибавляли 4-5 капель 1% водного раствора ализариново-кислого калия и титровали 0,1 н. раствором NaOH до появления стойкого желтого окрашивания. Определение аммиака в моче производили по методу Конвея в модификации Зелигсона и Зелигсон с помощью реактива Неслера (В.С. Асатиани, 1960).

Белок в моче выявляли прибавлением 2-3 капель 50% раствора сульфосилициловой кислоты к 3-4 мл прозрачной мочи, отцентрифугированной при 5000 об/мин. Интенсивность реакции оценивали по 3-х балльной системе.

Для гистологического исследования органов животных срезы из тканей окрашивали гематоксилин-эозином. Липиды в надпочечниках выявляли окраской Суданом Ш и Суданом черным "В". Холестерин в надпочечниках определяли методом поляризационной микроскопии.

Мы провели комплексное динамическое обследование и лечение 50 собак с осложненной беременностью (1-я группа). Группу сравнения (2-я группа) составили 50 собак, получавших общепринятую терапию (реополиглюкин, альбумин, глюкозо-новокаиновая смесь).

Первородящих было 43,5%, повторно беременных — 56,5%. У 21,5% повторнородящих в анамнезе были указания на нарушение во время беременности и родов.

Беременным 1-й группы в комплексную терапию включали коррекцию осложнений беременности растворами 6% оксигидролизованного крахмала в дозе 10 мл/(кгсут), концентрированными растворами углеводов в дозе 5 мл/(кгсут). Свежемороженную плазму применяли при уровне общего белка ниже 60 г/л. Гипотензивная терапия проводилась только после волеической нагрузки. В качестве препарата использовался 25% раствор сернокислого магния внутривенно (12 г сухого вещества).

Облучение животных проводилось при помощи аппарата «Универсал-М» с частотой 65,6 ГГц в режиме прерывистой генерации. Общее время облучения составляло 15 минут, т.е. 2 цикла по 5 минут воздействия и 5 минут перерыва между ними. Мощность падающего ЭМИ составляла 6+2 мВт/см². Локализация воздействия - в области нижней брюшной стенки вдоль линии живота. Указанная программа коррекции осуществлялась на протяжении 5 суток.

Статистические данные оценивали по критериям Стьюдента-Фишера. Вычисляли среднюю арифметическую величину, среднюю ошибку, показатель существенной разницы степени вероятности различий и коэффициент корреляции. Статистическую обработку полученных данных проводили на компьютере Pentium IV с применением статистической программы "Microsoft Excel", версия 5.0a.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

3.1. Динамика развития неспецифического иммунитета у плодов и новорожденных в условиях физиологической беременности.

В результате проведенных исследований не выявлена специфичность антител к дизентерийному антигену, что подтверждается отрицательными результатами исследования по отношению к кишечным бактериям серотипа ОШ.

При попытке дифференцировать обнаруживаемые антитела по их принадлежности к глобулинам сыворотки типа 7S и 19S с помощью цистеина мы не получили убедительных результатов из-за низких титров выявляемых антител. В то же время электрофоретическое исследование сыворотки указывает на отсутствие в ней фракции у-глобулинов.

Таблица 1 Гуморальные показатели неспецифического иммунитета у нормальных плодов собак ($\bar{x} \pm S_x$)

Возрастная группа животных	Титр антител к дизентерийным бактериям Зонне		Титр компонента (CH ₅₀ в мл)	Индекс бактерицидности	
	Методы:			Дизентерийные бактерии Зонне	Кишечные бактерии О-Ш
	Кунса	Агглютинации			
Плоды 7-8 недель	1:20 (19)	0 (10)	18,4±0,2 (11)	-0,31±0,01 (18)	-0,31±0,04 (20)
Плоды 9 недель	1:17 (15)	1:8 (15)	40,3±1,5 (22)	-0,19±0,02 (10)	-0,24±0,04 (19)
Самки беременные	1:40 (10)	1:29 (6)	116,8±7,6 (11) P<0,001	1,29±0,16 (10) P<0,001	1,46±0,24 (10) P<0,001
В скобках указано число исследований.					

В результате исследований было установлено, что экстракты тимуса и селезенки вызывают отчетливую агглютинацию (+++ и ++) дизентерийных бактерий. Титры агглютининов в экстрактах из тимуса плодов колеблются от 1:8 до 1:16, что вдвое превышают их уровень в сыворотке крови. Уровень агглютининов у щенят составляет, соответственно, 1:4- 1:32 и, в среднем, несколько снижен по сравнению с сывороткой. При смешении шигелл Зоне и изолированных клеток тимуса в 0,15 М р-ре NaCl и инкубации их отмечается явление аттракции бактерий и тимоцитов. При аттракции тимоцитов и В. руасуанеум последние быстро утрачивают подвижность.

В отличие от указанных бактерий кишечные палочки не подвергаются агглютинирующему действию экстрактов тимуса и не образуют с тимоцитами явлений аттракции, что подчеркивает специфичность этих феноменов и их связь с воздействием антител.

Весьма характерно, что в экстрактах тимуса плодов методом иммуноэлектрофореза обнаруживаются белки, идентичные $\beta_1\beta_2$ -глобулинами сыворотки крови взрослых собак.

Полученные данные позволяют рассматривать лимфоидную ткань тимуса и селезенки как возможный источник образования глобулинов и нормальных антител в организме плода.

Наряду с антителами в сыворотке крови плодов обнаруживается заметное количество комплемента. Минимальный уровень его отмечается у 5-недельных плодов (16,6-19,2 $\text{CH}_{50}/\text{мл}$). У плодов 7-недельного возраста активность комплемента увеличивается до 23,5-33,3 $\text{CH}_{50}/\text{мл}$ и достигает максимальных значений у 9-недельных плодов (30,0-50,3 $\text{CH}_{50}/\text{мл}$), приближаясь к уровню у новорожденных щенят.

Результаты исследований показали, что степень завершенности фагоцитоза увеличивается с возрастом плодов, что может быть обусловлено повышением энергетического обмена и усилением внутриклеточного синтеза ферментов.

Общее число лейкоцитов у плодов 7, 8 и 9-недельного возраста не составляет существенной разницы и колеблется от 8,11±0,3 тыс. до 9,96±0,5 тыс. в 1 мл крови. Количество лейкоцитов у беременных самок вдвое превышает их число у плодов и составляет 19,16±0,8 тыс. Содержание эозинофилов у 7, 8 и 9-недельных плодов составляет 3,1±0,6% и, соответственно, 2,3±0,4% и снижено по сравнению с взрослыми собаками (11,5±1,5%).

Таким образом, своеобразие белкового состава сыворотки крови плодов состоит в том, что в ней отсутствует ряд антигенов, присутствующих в крови у матери. Установленное различие касается и общего содержания белка в сыворотке. Подобные факты указывают на отсутствие проницаемости плаценты собак для белков крови. Следовательно, плод сам продуцирует большинство сывороточных белков.

После начала кормления молозивом содержание агглютининов к шигеллам Зонне в сыворотке щенят уже в первый день увеличивается вдвое по сравнению с доношенными плодами и составляет 1:10 - 1:20. К концу молозивного периода (3-4-й день) уровень агглютининов возрастает до 1:20-1:40 и достигает максимальной величины на 8-й день (1:20-1:80), к 21-му дню титры агглютининов снижаются до 1:10-1:40 и вновь повышаются к 28-му дню жизни щенят. Наряду с увеличением количества флуоресцирующих антител и агглютининов, в крови щенят резко возрастает уровень антител, вызывающих аттракцию дизентерийных бактерий и тромбоцитов.

Люминесцентная микроскопия мазков из кишечных палочек, обработанных сывороткой новорожденных щенят, во всех случаях оказывается отрицательной. У щенят 12-28 дневного возраста сыворотка вызывает слабое свечение бактерий (++) и лишь у взрослых собак отмечается более интенсив-

ная люминесценция. Однако титр сыворотки у них не превышает 1:5-1:10. Агглютинины к кишечным бактериям полностью отсутствуют у щенят первых дней жизни и непостоянно обнаруживаются у 3-х и 4-х недельных щенков. Титр их у взрослых собак составляет 1:5-1:10. Ни в одной из обследуемых групп растущих животных не наблюдается сколько-нибудь выраженной аттракции кишечных бактерий.

Комплементарная активность крови щенят увеличивается от 31,1-71,4 $\text{CH}_{50}/\text{мл}$ в первый день до 52,6-133,3 $\text{CH}_{50}/\text{мл}$ на 3-4-й день жизни животных. В период с 8-го по 12-й день активность комплемента возрастает от 82,8 $\text{CH}_{50}/\text{мл}$ до 200 $\text{CH}_{50}/\text{мл}$. К этому сроку средние показатели комплементарной активности увеличиваются втрое по сравнению с исходными данными.

В этом убеждают опыты по определению комплементарной активности молока собак. Применение фотоколориметрического метода не позволяет обнаружить присутствие заметного количества комплемента даже в 2,0-3,0 мл молока. Очевидно, в связи с этим быстронарастающее содержание комплемента в сыворотке крови щенят может быть достигнуто за счет синтетических процессов и лишь при таком уровне белкового обмена, при котором организм получает все необходимые аминокислоты для синтеза белковой молекулы комплемента.

Одновременно с возрастанием уровня комплемента, увеличивается бактерицидная способность сыворотки крови щенят. Уже на 2-3 день показатель бактерицидности сыворотки по сравнению с первым днем достоверно увеличивается и достигает наибольшей величины на 8-й день жизни животных.

Степень бактерицидности сыворотки по отношению к дизентерийным бактериям оказывается неизменно более высокой, чем к кишечным бактериям. Указанное различие сохраняется у щенят всех возрастных групп и достигает наибольшего значения в период вскармливания молозивом (2-3-й день) и после начала прикорма, начиная с 21-го дня, одновременно с накоплением гомологичных антител в сыворотке. У взрослых собак показатели бактерицидности заметно выравниваются, что совпадает с появлением в их крови антител к кишечным бактериям.

В полном соответствии с формированием гуморальных факторов иммунитета развивается фагоцитарная реакция крови растущих животных. Уже в первый день жизни фагоцитарная активность лейкоцитов щенят оказывается более высокой, чем у зрелых плодов ($P < 0,02$). В ближайшие 3-4 дня после начала кормления молозивом фагоцитарная способность крови щенят по отношению к дизентерийным бактериям увеличивается почти вдвое.

Переход к внеутробной жизни животных сопровождается рядом изменений со стороны лейкоцитарного состава крови. Если в 1-й день общее число лейкоцитов у щенят составляет $11,34 \pm 0,7$ тыс. в 1 мл крови, то к 3-4 дню оно увеличивается до $14,82 \pm 0,6$ тыс. ($P < 0,001$). В срок с 8-го по 28-й день число лейкоцитов уменьшается до $12,17 \pm 0,6$ - $13,33 \pm 0,9$ тыс. ($P > 0,05$) и соответствует уровню у взрослых собак ($13,37 \pm 0,8$ тыс.).

Выявленные изменения белкового состава сыворотки хорошо коррелируют с данными о формировании иммунологических свойств крови растущих животных. Весьма характерным является факт, что вплоть до 28-го дня иммунологические показатели и уровень белка в крови щенят остаются более низкими, чем у взрослых собак.

Изучение степени корреляционной зависимости, в частности, между содержанием у-глобулиновой фракции белка и фагоцитарными свойствами крови щенят показывает тесную и прямую связь соответствующих показателей ($r=0,742$).

Таким образом, результаты исследований позволяют считать, что развитие клеточных и гуморальных факторов естественного иммунитета находится в непосредственной зависимости от характера белкового обмена у растущих щенят, сочетающего в себе не только синтез белковых и иммунных тел, но и усвоение их из молока матери, особенно эффективное в периоде молозивного вскармливания животных.

3.2. Особенности развития неспецифического иммунитета у плодов и новорожденных собак при нарушении нормального течения беременности.

Средняя продолжительность беременности у собак, подвергнутых невротическому воздействию, составляет $59,4 \pm 0,8$ дня против $62,3 \pm 0,2$ дня у клинически здоровых животных ($P < 0,001$). Преждевременные роды на срок от 3 до 8 дней отмечены у 8 из 19 собак. В одном случае после трехкратного повреждающего воздействия беременность закончилась на 47-й день выкидышем 2-х мертвых мацерированных плодов с признаками резкой недоразвитости. Общее число мертворождений по отношению ко всем родившимся щенятам составило 5,0%.

Характерной особенностью течения родов у собак с нарушенной беременностью является удлинение срока изгнания плодов и увеличение безводного периода. Если у нормальных собак рождение щенят осуществляется, как правило, в предутренние или ранние утренние часы, то у опытных животных рождение плодов после отхождения вод затягивается до полудня или протекает в течение всего дневного времени.

Основными патологическими проявлениями у живых плодов 9-недельного возраста, извлеченных чрезвсечением, является ацидотический сдвиг кислотно-щелочного равновесия и распространенные кровоизлияния во внутренние органы, обнаруживаемые макроскопически и при гистологическом анализе.

Так, количество амниака в моче у незрелых 9-недельных плодов, полученной пункцией мочевого пузыря, составляет $383 \pm 8,3\mu$ в то время как у физиологически зрелых плодов того же возраста — $243 \pm 35,8\mu$ ($P < 0,01$)

Таблица 2 Фагоцитарная активность лейкоцитов крови плодов собак

Возрастная группа животных	Показатель фагоцитоза							
	Дизентерийные бактерии Зонне				Кишечные бактерии ОШ			
	Инд 30	Инд 90	ИФ (%)	ЗФ (%)	Инд 30	Инд 90	ИФ (%)	ЗФ (%)
Плоды 7-8 недель	1,1±0,03 (19)	1,4±0,05 (14)	6,1±0,9 (19)	82,5±1,7 (14)	1,2±0,2 (19)	1,2±0,02 (14)	6,0±1,0 (19)	82,7±1,7 (14)
Плоды 9 недель	1,2±0,05 (20)	1,9±0,11 (14)	6,8±0,6 (20)	92,7±1,3 (14)	1,1±0,06 (22)	1,4±0,06 (14)	5,1±0,7 (22)	91,4±1,2 (14)
Самки беременные	3,1±0,4 (8) P<0,001	3,3±0,2 (6) P<0,001	46,1±4,5 (8) P<0,001	92,5±1,7 (6) P>0,05	1,3±0,09 (8) P>0,01	2,0±0,2 (6) P<0,01	17,4±3,3 (8) P<0,001	90,0±4,1 (6) P>0,05
В скобках указано число исследований								

При сравнении массы вилочковой железы оказывается, что средний абсолютный вес ее у нормальных плодов выше, чем у незрелых.

В первый день после рождения абсолютный и относительный вес железы у щенят обеих групп резко снижается, в дальнейшие сроки отмечается постепенное увеличение массы органа. Из сравнения данных вытекает, что уменьшение массы железы у опытных щенят в ближайшие 2-8 дней указывается более выраженным, чем у нормальных животных.

Сушественно подчеркнуть, что максимальное уменьшение массы вилочковой железы совпадает во времени с наибольшим увеличением массы надпочечников, в то время как увеличение веса тимуса соответствует периоду уменьшения веса надпочечных желез. Указанная корреляция подтверждается тесной взаимосвязью сравниваемых показателей ($r = -0,690$; $P < 0,05$), что, несомненно, подчеркивает функциональную связь обоих органов животных.

При гистологическом исследовании вилочковой коры в расширенных прослойках соединительной ткани долек содержится значительное количество тимоцитов. В мозговом веществе отмечается активация тимического эпителия с образованием мелких и крупных телец Гассала. Вся ткань железы пронизана резко инъецированными сосудами.

Структура тимуса плодов от здоровых собак соответствует физиологическому состоянию органа. В центре некоторых долек встречаются немногочисленные и мелкие тельца Гассала.

В этих условиях развивается ослабление резистентности щенят к инфицирующему действию сопутствующей микрофлоры. Развившееся состояние аутоинфекции является результатом изменения реактивности животных вследствие ослабления естественных иммунобиологических механизмов.

В процессе нарушения беременности содержание нормальных антител у плодов заметно снижается. Так, из 22-х обследованных 9-недельных плодов отрицательные результаты агглютинации дизентерийных бактерий сыворотки отмечены у 18. Средний титр агглютининов к дизентерийному антигену у опытных составляет 1:5, у контрольных плодов - 1:8 (все результаты агглютинации положительные). Средний агглютинационный титр у опытных самок составляет 1:8, у контрольных 1:40.

Таблица 3 Белковый состав сыворотки крови плодов собак ($\bar{x} \pm S_x$)

Возрастная группа животных	Общий белок (г%)	Белковые фракции в г% (%)					
		А	α	β_1	β_2	β_3	γ
Плоды 7-8 недель	3,13 $\pm$ 0,03	1,87 $\pm$ 0,01	0,93 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,00
Плоды 9 недель	3,45 $\pm$ 0,04	2,02 $\pm$ 0,03	1,01 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,01	0,20 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,0
Самки беременные	0,12 $\pm$ 0,12 P<0,001	2,49 $\pm$ 0,08 P<0,01	1,74 $\pm$ 0,06 P<0,05	1,45 $\pm$ 0,06 P<0,001	0,42 $\pm$ 0,03 P<0,05	0,32 $\pm$ 0,02 P<0,05	0,76 $\pm$ 0,01 P<0,01

Титры агглютининов у родивших собак составляют к дизентерийным бактериям - 1:20 - 1:80 (в среднем, 1:35), к кишечным бактериям - 1:5 - 1:20 (в среднем 1:8). Истинное содержание агглютининов у самок опытной группы несколько ниже, чем у контрольных животных.

Комплементарная активность крови у щенят опытной группы в первый день колеблется в широких пределах (25,0 - 100,0 СН₅₀/мл) и приближается, в среднем, к показателям у нормальных животных.

В течение первых 4-х дней периода новорожденности бактерицидные свойства сыворотки у незрелых щенят резко усиливаются и превышают соответствующие показатели у нормальных животных.

В периоде с 8-го по 12-й день у щенят сохраняются относительно высокие показатели бактерицидной активности сыворотки к дизентерийным и кишечным бактериям, однако к 21-му дню индекс бактерицидности к кишечным палочкам резко снижается.

Необходимо подчеркнуть, что именно в этот период (2-3 неделя) в патологии у щенят выступают на первый план явления энтерита. Естественно предположить в этой связи, что ослабление бактерицидности сыворотки к кишечным бактериям возникает в результате уменьшения выработки гомологичных 19-S антител, обладающих бактерицидными свойствами и синтезируемых в организме щенят в ответ на воздействие сопутствующей микро-

флоры, родственной в антигенном отношении кишечным бактериям 0-III. Ослабление антибактериального действия сыворотки у щенят происходят в связи с возникновением физиологической незрелости

В этой связи обращает внимание тот факт, что угнетение фагоцитоза наступает не только у новорожденных щенят, но и их матерей, подвергающихся стрессовому воздействию в процессе беременности.

В первый день жизни общее число лейкоцитов, а также относительное и абсолютное содержание лимфоцитов и моноцитов у них оказывается более высоким, чем у плодов 9 недельного возраста ($P < 0,01 < 0,001 < 0,001$). В указанный срок число лейкоцитов опытных щенят несколько превышает, а уровень лимфоцитов и моноцитов оказывается достоверно более высоким, чем у нормальных щенят. Относительное число эозинофилов у опытных ниже, чем у контрольных животных.

К 3-4 дню общее число лейкоцитов у опытных существенно возрастает и достоверно превышает их уровень у нормальных щенят. В этот период количество лейкоцитов у отдельных животных колеблется от 9250 до 27850 в 1 мм^3 . К 8-12 дню общее число лейкоцитов у опытных резко увеличивается, превышает в ряде случаев 30000-40000 в 1 мм^3 . У одного из щенят с синдромом тяжелого энтерита число лейкоцитов на 21-й день составило 59750 в 1 мм^3 . В указанный срок индивидуальные колебания числа лейкоцитов составили цифры 8500-31300 в 1 мм^3 крови.

Содержание белка в сыворотке крози у щенят, взятой в первые 6-8 часов после начала сосания, составляет $3,70 \pm 0,08 \text{ г\%}$, альбумина - $1,85 \pm 0,08 \text{ г\%}$; у-глобулина - $0,06 \pm 0,005 \text{ г\%}$. Крайне сниженный уровень гаммаглобулинов обусловлен задержкой отделения молозива у самок, а также ослабленностью движений, связанных с поиском груди матери у незрелых щенят.

К концу 1-го дня жизни количество общего белка в сыворотке (26) сосущих щенят достигав $3,81 \pm 0,08 \text{ г\%}$ ($P > 0,05$), альбумина - $1,63 \pm 0,09 \text{ г\%}$ ($P > 0,05$), у-глобулина - $0,18 \pm 0,03 \text{ г\%}$ ($P < 0,001$). Однако суммарный уровень гамма-глобулинов в первый день после рождения остается сниженным у незрелых щенят по сравнению с нормальными животными.

После окончания периода вскармливания молозивом с 8-го по 12-й день содержание гаммаглобулинов значительно снижается ($P < 0,05 < 0,02$) и оказывается более низким, чем у контрольных щенят. В указанный срок количество альбумина уменьшено, а а-глобулинов - увеличено до сравнения с нормальными щенятами.

К 28-му дню соотношение альбуминовой и а-глобулиновой фракции белка в сыворотке щенят обеих групп остается прежним. Количество гаммаглобулинов у опытных достоверно увеличивается ($P < 0,001$), но истинное содержание их остается сниженный по сравнению с контрольными щенятами.

Из 34 сывороток крови, исследованных в первый день после рождения щенят у-глобулиновая фракция белка обнаружена лишь в 10. Более чем в половине случаев не отмечено образования линий преципитации, характерных для β_2 -и β_3 -глобулинов сыворотки.

К 3-4 дню общее число антигенных детерминант в сыворотке крови щенят опытной группы увеличивается, в среднем, на 2-3 по сравнению с первым днем, главным образом, за счет а, р* и особенно, у -глобулиновых фракций белка.

В противоположность этим данным, у щенят контрольной группы происходит непрерывное усложнение состава сывороточных белков, достигающее наивысшей ступени у взрослых собак.

Низкий уровень гаммаглобулинов, циркулирующих в крови у незрелых новорожденных щенят, в основном, по-видимому, обусловлен пониженным усвоением их из молока матери, в связи с рано возникающими явлениями энтерита и изменением всасывающих свойств кишечного эпителия.

Таким образом, полученные данные позволяют прийти к выводу, что нарушение белкового и других видов обмена в организме у незрелых новорожденных щенят, возникающие в процессе нарушения беременности у матери, является основной причиной ослабления неспецифического иммунитета и резистентности животных к инфицирующему действию окружающей микрофлоры. Ведущим звеном в нарушении иммунной реактивности новорожденных следует считать угнетение фагоцитарно-клеточной реакции организма, обеспечивающей наибольшее защитное действие в процессе инфекции.

3.3. Разработка методов коррекции адаптационных механизмов у беременных и плодов при стрессовых воздействиях.

Наблюдаемое у плодов повышение синтеза белка и иммунных тел можно рассматривать как результат подкрепления гестационной доминанты и включения механизмов регуляции гомеостаза у матери и плода. Среди последних наиболее очевидную роль играет изменение функции надпочечных и вилочковой желез плодов. Принимая во внимание стрессовый характер воздействий на организм беременной матери, можно предположить, что анаболический характер белкового обмена и усиление иммунобиологических свойств у адаптированных животных возникает в связи с быстрой сменой действия гормонов протеино-катаболического типа (АКГТ-кортизон) на соматотропный гормон гипофиза и наступление соответствующей противошоковой фазы общего адаптационного синдрома по Селье.

Не исключена возможность, что в основе адаптации животных к действию стрессовых раздражителей лежит изменение генетического кода, контролирующего ферментативную деятельность и нейросекреторную функцию клеток центральных адренергических структур, играющих роль пускового механизма в усилении функции симпатико-адреналовой и гипофизарно-надпочечниковой системы в процессе стрессовых воздействий.

О роли генетического фактора в возбудимости гипофизарно-надпочечниковой системы свидетельствуют, в частности, данные о своеобразных изменениях в гипофизе и надпочечниках животных с генетически обусловленной высокой чувствительностью к действию звука.

У беременных собак до начала комплексной терапии было выявлено нарушение маточно-плацентарного кровотока. После проведения терапии в 1-й группе установлено достоверное улучшение кровообращения в маточных артериях и артерии пуповины в результате снижения периферического сопротивления и уменьшения диастолической скорости кровотока в ответ на улучшение перфузии плаценты. Изменения доплерографических показателей в 1-й и 2-й группах отражены на рис. 1,3.

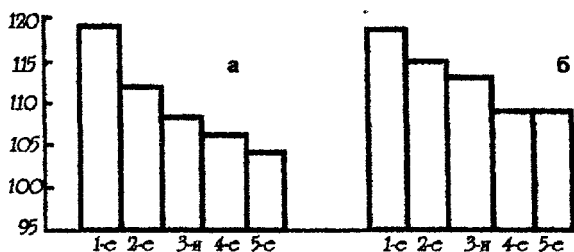


Рис.1. САД у беременных 1 и 2-й группы - первой группы; б - второй группы. По оси абсцисс - сутки наблюдения; по оси ординат - САД, мм рт.ст.

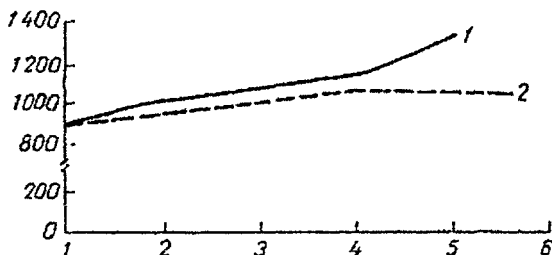


Рис.2 Экскреторная функция почек при гестозе. 1 - первая группа; 2 - вторая группа

По оси абсцисс - время наблюдения; по оси ординат - диурез, мл.

На кардиотограммах зарегистрированы повышение амплитуды и снижение частоты мгновенных осцилляции, уменьшение длительности и выраженности спонтанных децелераций, снижение стабильности ритма и увеличение его вариабельности. До нормальных уровней повысилось содержание плацентарных белков (рис.2)

Кроме того, для оценки влияния 6% раствора оксиэтилированного крахмала проводилось гистологическое изучение плацент. Главной их особенностью было неравномерное созревание отдельных плацентом

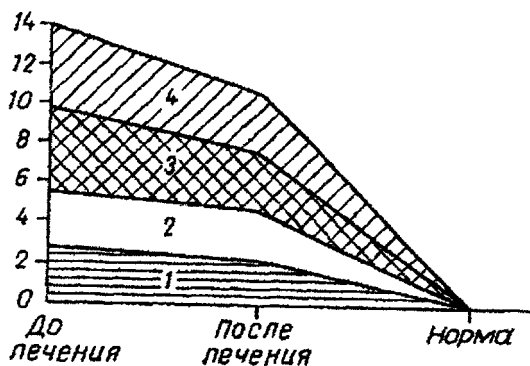


Рис.3. Изменение доплерометрических показателей кровотока в процессе лечения. 1 - СДО (маточная артерия, первая группа), 2 - СДО (маточная артерия, вторая группа), 3 - СДО (пупочная артерия, первая группа), 4 - СДО (пупочная артерия, вторая группа). По оси ординат — скорость кровотока, см/с.

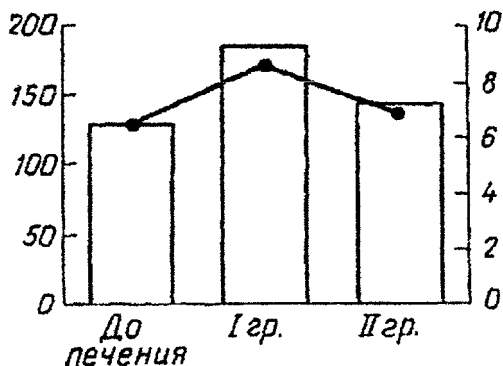


Рис.4. Изменение концентрации плацентарных белков в плазме в процессе лечения. Столбики - ТБГ, Сплошная линия - ПЛЧ, по оси ординат - концентрация плацентарных белков, мкг/мл.

Наряду с нормальными, хорошо васкуляризированными терминальными ворсинками в препаратах встречались зоны хаотичных склерозированных ворсин, незрелые промежуточные ветви с рыхлой стромой и дистрофически измененными клетками. Неравномерность созревания просматривалась во всех изучаемых препаратах и распространялась на большую площадь плаценты. Вместе с тем, при правильном ветвлении более крупных ворсин мышечный компонент их стенок был развит слабо.

Проведенное исследование свидетельствует о высокой эффективности растворов 6% оксиэтилированного крахмала в комплексной КВЧ-терапии осложненной беременности. На основании клинических данных можно рекомендовать включение в схему комплексной терапии 6% раствора оксиэтилированного крахмала в сочетании с КВЧ-терапией, которые дают стойкий

клинический эффект в результате ликвидации гиповолемии, корректирующего действия на гемореологические показатели и улучшают микроциркуляцию системы "мать-плацента-плод".

Среди клинических осложнений беременностей у сук наиболее часто выявляются ранний токсикоз (16,8 %) и гестоз (22,8 %), угроза прерывания (27,8 %), самопроизвольный выкидыш (6,2 %), неразвивающаяся беременность (17,2 %), угроза преждевременных родов (16,8 %) и преждевременные роды (16,7 %). Результаты исследования позволили выявить наиболее информативные гормональные параметры. Концентрация в плазме крови р-субъединицы хорионического гонадотропина позволяет оценить функцию трофобласта, наблюдать за течением беременности, прогнозировать ее исход (рис. 4).

У беременных с нарушением ее течения проведена оценка воздействия КВЧ-терапии на состояние плода и новорожденного в сравнении с беременными, которым проведено традиционное лечение. При КВЧ-терапии отмечена нормализация рН крови новорожденных, тогда как у новорожденных, матери которых не получали лечения, наблюдался выраженный ацидоз. При назначении процедур парциальное давление (pOr) крови новорожденных также было существенно выше, чем при отсутствии лечения: $74,0 \pm 8,4$ и $59,1 \pm 4,5$ мм.рт.ст. ($p < 0,05$). В то же время парциальное давление (pСб) в крови новорожденного в группе лечения КВЧ-излучением заметно снижалось: $21,0 \pm 1,2$ и $35,1 \pm 1,7$ мм.рт.ст. ($p < 0,05$).

При лечении традиционными методами благоприятных изменений содержания иммунокомпетентных клеток не выявлено. Повышение содержания IgG в крови матери можно рассматривать как результат плацентарной недостаточности, уменьшающей переход ее иммуноглобулинов к плоду и ведущей к их накоплению у беременной. В целом, изменения показателей иммунного статуса беременных при лечении традиционными методами необходимо расценить как неблагоприятные.

Основным результатом проведенного исследования можно считать вывод о том, что главным фактором, определяющим риск осложнений у плода и новорожденного, является состояние гомеостаза матери. Используемая нами тактика введения беременных с нарушением ее течения, а также диагностика, профилактика и лечение синдрома данного заболевания указанными выше методами позволяет достичь определенного улучшения перинатальных исходов в сравнении с данными, приведенными в работах последних лет.

При нарушении течения беременности перинатальная смертность в наблюдаемой группе составила 3% против 21% в контрольных группах животных.

Таблица 4. Влияние коррекции осложнений беременности на показатели иммунитета в крови матери и плода.

Показатели иммунитета	КВЧ «Универсал-М» в сочетании с введением в курс 6%-ного ОЭ-крахмала		Традиционные методы	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
БАСК, % матери	33,1±12,8	-4,8±9,6**	67,1±4,1	34,4±9,4**
БАСК, % плода	-31,9±10,3	-16,0±4,7**	35,1±12,8	32,1±13,1
IgM крови, г/л матери	1,5±0,3	1,8±0,2	1,7±0,2	2,6±0,4
IgM крови, г/л плода	1,3±0,2	1,5±0,3	1,4±0,2	2,6±0,5
IgG крови, г/л матери	18,2±1,6	17,6±1,3	14,2±1,4	18,0±0,8*
IgG крови, г/л плода	14,7±2,5	19,7±0,4*	9,5±2,8	13,8±2,2*

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$

Проведенное исследование свидетельствует о высокой эффективности растворов 6%-ого оксигелированного крахмала в комплексной КВЧ-терапии нарушений беременности. На основании клинических данных можно рекомендовать включение в схему комплексной терапии растворов оксигелированного крахмала в сочетании с КВЧ-терапией, которые дают стойкий клинический эффект в результате ликвидации гиповолемии, корригирующего действия на гемореологические показатели и улучшает микроциркуляцию системы "мать-плацента-плод".

4. ВЫВОДЫ

1. Формирование неспецифического иммунитета у плодов завершается на 7-ой неделе внутриутробного развития. Полученные нами данные позволяют рассматривать лимфоидную ткань тимуса и селезенки как возможный источник образования глобулинов и нормальных антител в организме плодов. Наряду с антителами в сыворотке плодов обнаруживается комплемент. Минимальный его уровень ощущается у 5 недельных плодов ($16,6 - 19,2 \text{ CH}_5/\text{мл}$). У плодов 7 недельного возраста при этом активность комплемента увеличивается до $23,5 - 33,3 \text{ CH}_{50}/\text{мл}$ и достигает максимума у 9-недельных плодов $30,0 - 50,3 \text{ CH}_{50}/\text{мл}$.

2. Комплементарная активность крови щенят увеличивается от $31,1$ до $71,4 \text{ CH}_{50}/\text{мл}$ в первый день до $52,6 - 133,3 \text{ CH}_{50}/\text{мл}$ на 3-4-й день жизни щенят. В период с 8-го по 12-й день активности комплемента возрастает от $82,9 \text{ CH}_{50}/\text{мл}$ до $200 \text{ CH}_{50}/\text{мл}$. При этом комплементарный белок в отличие от антител не передается щенятам непосредственно с молоком матери. Одновременно с возрастанием уровня комплемента увеличивается бактерицидная активность сыворотки крови щенят.

3. Особенность развития неспецифического иммунитета у плодов и новорожденных щенят при гестозе беременных показывает, что динамика массы вилочковой железы и тимуса значительно снижена. Так из 22-х обследованных плодов отрицательные результаты агглютинации дизентерийной бактерии сыворотки отмечали у 18. Средний титр агглютининов к дизентерий-

ному антигену у подопытных составляет 1:5, у контрольных, плодов - 1:8. При этом уровень комплементарной активности снижается до 20,0 СН₅₀/мл

4. Состояние белкового обмена у плодов при гестозе характеризуется снижением альбуминовой фракции, в тоже время уровень у-глобулиновой фракции повышается. Повышается новообразование глюкозы у плодов, связано с усилением анаэробного гликолиза. При этом энергия анаэробного гликолиза используется плодом при длительном переживании в условиях кислородной недостаточности.

5. При обследовании 58 щенят в первый день после рождения нормальные агглютинины к шигеллам Зонне обнаружены у 48. Титры антител колеблются у них от 1:5 до 1:40 и составляют, в среднем, 1:14, против 1:18 у нормальных животных. Принимая во внимание явление гемоконцентрации следует считать, что действительный уровень нормальных антител у незрелых новорожденных щенят еще более снижен по сравнению с нормальными животными.

6. Через 16-18 часов после начала вскармливания молозивом фагоцитарная активность лейкоцитов также отсутствовала у половины обследованных щенят и была резко сниженной у других по сравнению с нормальными животными. В период с 4-го по 28-й день отрицательная реакция фагоцитоза отмечена у 13,0-35,0% щенят к дизентерийным бактериям и у 15,5-51,6% - к кишечным палочкам.

7. При изучении особенностей развития беременности у 3-х собак, подвергавшихся многократным стрессовым воздействиям в течение 3-4 беременностей подряд нами не отмечено характерного ацидотического сдвига кислотно-щелочного равновесия и появления белка в моче, а также ухудшения общего состояния животных. Показатели кислотно-щелочного гомеостаза у этих животных в период с 5-й по 9 недели последней беременности до начала стрессовых воздействий и в процессе 1-6 воздействий составляют: pH - 5,5 - 7,2 (5,9 - 8,0), титруемая кислотность - 22 - 100 мл (10-96 мл), титруемая щелочность - 22-88 мл (20-88 мл, аммиак - 164-227у (29 - 276у).

8. После курса лечения 6% раствором оксиэтилированного крахмала наблюдалось постепенное снижение систолического артериального давления. Через 5 дней лечения по представленной схеме систолическое артериальное давление достоверно снижалось со 119±0,2 до 103±0,11 мм. рт. ст. ($p<0,05$). Диурез увеличивался у всех собак. В 1-й группе отмечено увеличение диуреза по отношению к исходной величине до лечения на 41,7±4,9%, во 2-й группе — на 18,9±3,5% ($p<0,001$). Отеки исчезли у 89% беременных и уменьшились у 11%. Протеинурия снизилась с 2,72±0,2 до 0,21±0,1 г/л или полностью исчезла после окончания курса лечения. У беременных 2-й группы протеинурия снизилась лишь до 0,71±0,12 г/л ($p<0,01$).

9. У беременных, с нарушением течения беременности при КВЧ-терапии отмечена нормализация pH крови новорожденных, тогда как у новорожденных, матери которых не получали лечения, отмечался выраженный ацидоз. При назначении процедур парциальное давление (pCб) крови новорожденных также было существенно выше, чем при отсутствии лечения:

74,0±8,4 и 59,1±4,5 мм.рт.ст. ($p<0,05$). В то же время парциальное давление (pO_2) в крови новорожденного в группе лечения КВЧ-излучением заметно снижалось: 21,0±1,2 и 35,3±7 мм.рт.ст. ($p<0,05$).

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Результаты исследований изложения в диссертации, рекомендуются для использования в учебном процессе по биофизике, патологической физиологии и ветеринарному акушерству, гинекологии и биотехники разведения животных, а также на курсах повышения квалификации практикующих ветеринарных врачей.

2. Практической ветеринарией предлагается для лечения сук с осложненной беременностью использовать:

- КВЧ аппарат «Универсал-М» в виде моносредства, путем воздействия на БАТ беременных сук, 1 раз в сутки, при экспозиции 5 мин., ежедневно, курс лечения - 7 дней.

- КВЧ аппарат «Универсал-М» в сочетании с введением 6%-ного оксигенированного крахмала. 1 раз в сутки, через 48 часов, до выздоровления животного.

6. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бабушкин В.А. Гипогонадотропная форма аменореи при осложненном течении индуцированной беременности у собак // Развитие народного хозяйства в Западном Казахстане: потенциал, проблемы и перспективы /Бабушкин В.А., Авдеенко В.С./ Материалы международной научно-практической конференции ЗКАТУ. - Уральск. 2003. Часть I. — С. 249-250.

2. Бабушкин В.А. Особенности антенатальной охраны плода в условиях техногенного загрязнения окружающей среды // Развитие народного хозяйства в Западном Казахстане: потенциал, проблемы и перспективы /Бабушкин В.А., Авдеенко В.С./ Материалы международной научно-практической конференции ЗКАТУ. - Уральск. 2003. Часть I. - С. 250-251.

3. Бабушкин В.А. Коррекция гиповолемии у собак при тяжелых формах гестозов ЭМИ КВЧ - мм Диапазона // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - Москва. 2003.3 (31). - С. 52-56.

4. Бабушкин В.А. Иммунологические показатели при неосложненном и осложненном течении индуцированной беременности у собак // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - Москва. 2003. 3 (31). - С. 56-60.

5. Бабушкин В.А. Коррекция гестозов беременных сук электромагнитными волнами мм диапазона // Миллиметровые волны в биологии и медицине.-Москва. 2003. 3 (31). - С. 61-64.

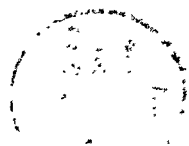
Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная. Подписано в печать 20.04.2005.

Гарнитура Тайме. Печать Riso.

Усл. печ. л. 1,00. Тираж 100 экз. Заказ 171

Отпечатано с готового оригинал-макета.

410005, Саратов; Пугачевская, 161, офис 320. в 27-26-93



19 МАЙ 2005

944