

На правах рукописи

Файзуллина

**ФАЙЗУЛЛИНА
ЛАРИСА РАДИКОВНА**

**ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОЙ
КОМПОЗИЦИИ ПОЛИЗОН+РЕТИНОЛА АЦЕТАТ И ЕЕ
ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ БРОНХОПНЕВМОНИИ ПОРОСЯТ**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Казань – 2006

Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Исмагилова Асия Фахретдиновна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
Асланов Рашид Михайлович;

доктор ветеринарных наук, профессор
Софронов Владимир Георгиевич

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Ульяновская
государственная сельскохозяйственная
академия»

Защита диссертации состоится «16» ноября 2006 года в 10 часов на заседании диссертационного совета Д-220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» по адресу: 420075, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок – 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных»

Автореферат разослан «16» ноября 2006 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета  В.И. Степанов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. В России ведутся многочисленные исследования с целью всестороннего изучения наиболее часто встречающихся заболеваний органов дыхания. Патология респираторного тракта разнообразна, и включает большое количество неодинаковых по происхождению, клинкоморфологическому проявлению и эпизоотологическим особенностям заболеваний. Несомненно, что в этом направлении достигнуты определенные успехи.

Возникновение и развитие патологического процесса в респираторном тракте обусловлено воздействием комплекса различных причин. При этом ведущая роль может принадлежать одному этиологическому фактору, вызвавшему нарушение обменных процессов, к которому впоследствии присоединяются и другие факторы.

С развитием промышленного животноводства основными причинами снижения продуктивности, увеличения заболеваемости и падежа животных является дисбаланс питательных веществ в рационе, низкое качество кормов, нарушение технологии кормления и содержания животных.

Недостаток отдельных элементов питания, приводит к нарушению процесса обмена веществ, которые ответственны за формирование белков, выработку гормонов, снижению воспроизводительности и иммуноглобулинов. Это ведет к снижению продуктивности, нарушению иммунного статуса организма и защитных сил, активизации патогенной и условно-патогенной микрофлоры и развитию целого спектра респираторных заболеваний. (Шахов А.Г., 1990; Бузлама В.С., 1991; Аргунов М.Н., 1994; Рахматуллин Э.К., 2000; Папуниди К.Х., 2001; Трemasов М.Я., 2001; Лодяной М.С., Великанов В.И., Ярушин А.Д., 2003; Набиев Ф.Г., 2003; Самородова, И.М., Рабинович М.И., 2004;).

Особенно вредно действуют на организм поросят колебания температуры воздуха, сквозняки, насыщенности воздуха свинарников аммиаком и углекислым газом, содержанию свиней на цементных полах, в сырых и холодных свинарниках, авитаминозы, минеральное голодание. От общей заболеваемости на долю респираторных болезней приходится 30-32%. (Антипов В.А., 1989; Ноздрин Г.А., 1996; Зухрабов М.Г., Софронов В.Г., 2001; Донник И.М., Шкуратова И.А., 2003; Дорожкин В.И., 2003; Жаров А.В., 2003;).

В связи с вышеизложенным в ООО «Поливит» под руководством доктора технических наук Струнина Б.П. проведен синтез препарата «Полизон». Фосфорнокислая соль 2-амино-4-метилтио-(S-оксо-S-имино)-масляной кислоты, зарегистрированная нами в федеральном институте промышленной собственности под торговым названием «Полизон». На основе доступного крупнотоннажного производства метионина разработан четырехстадийный способ получения препарата «Полизон» с выходом 62-63%. Получено наставление, утвержденное Департаментом ветеринарии Минсельхоза РФ от

26 июня 2002г. (протокол №2). Ретинола ацетат применяют с профилактической и лечебной целью при бронхопневмонии поросят. На основе «Полизон» и витамина Ретинола ацетат получена композиция «Полизон+Ретинола ацетат», сочетающий несколько видов фармакологической активности.

1.2. Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение токсико-фармакологических свойств новой композиции «Полизон+Ретинола ацетат» и его применение при бронхопневмонии поросят.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи:

- определить острую токсичность для белых мышей и крыс.
- изучить иммунологические показатели (влияние на активность антигенспецифических Т – супрессоров в первичном иммунном ответе; на фагоцитоз; на реакцию бласттрансформации лимфоцитов; на реакцию трансплантат против хозяина; на функциональную активность перитонеальных макрофагов; на реакцию клеточного иммунитета; на антителообразующие и розеткообразующие клетки)
- изучить противовоспалительную активность.
- изучить влияние на массу внутренних органов крыс.
- изучить гематологические и биохимические показатели крови, прирост массы тела и сохранность поросят.
- определить концентрацию гистамина и серотонина в крови больных бронхопневмонией поросят.

–провести гистологические исследования внутренних органов поросят.

1.3. Научная новизна. Впервые изучены отдельные механизмы иммунотропного действия новой композиции «Полизон+Ретинола ацетат». Выявлены противовоспалительные свойства. Изучено влияние на массу тела и внутренних органов крыс. Проведены комплексные исследования по изучению гематологических и биохимических показателей крови поросят. Определена концентрация гистамина и серотонина в крови больных бронхопневмонией. Впервые проведены гистологические исследования легких поросят, при применении новой композиции Полизон+Ретинола ацетат.

1.4. Теоретическая и практическая значимость. Выполненные исследования и полученные результаты позволили предложить композицию как конкурентоспособный препарат для повышения резистентности организма и лечения бронхопневмонии. По результатам исследований оформлена заявка на изобретение № 2005137095/13(041387) от 06.02.2006 (Способ применения композиции Полизон+Ретинола ацетат при бронхопневмонии). Утверждено наставление от 26 июня 2002 г. Департаментом ветеринарии МСХ РФ; получен сертификат соответствия РОСС RU. ПО96. В10347.

1.5. Основные положения, выносимые на защиту:

- фармакологический спектр и механизм иммуномодулирующего действия композиции «Полизон+Ретинола ацетат»;
- параметры безвредности композиции «Полизон+Ретинола ацетат»;
- обоснование использования композиции «Полизон+Ретинола ацетат»

для лечения бронхопневмонии поросят.

1.6. Аprobация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и получили положительную оценку на:

- Международной научно-практической конференции «Наука - сельскохозяйственному производству и образованию» (Смоленск, 2004);
- XII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2005);
- Всероссийской научно-практической конференции «Современное развитие АПК: региональный опыт, проблемы, перспективы» (Ульяновск, 2005);
- XVII Международной межвузовской научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2005);
- Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы ветеринарии в XXI веке» (Улан-Удэ, 2005);
- Международной конференции «Средства и методы обеспечения экологической безопасности» (Астрахань, 2005);
- Всероссийской конференции «Перспективные направления научных исследований молодых ученых и студентов Урала и Сибири» (Троицк, 2005);
- 17-й международной научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2006);
- Всероссийской научно-практической конференции «Перспективы агропромышленного производства регионов России в условиях реализации приоритетного национального проекта «Развитие АПК» (в рамках XVI Международной специализированной выставки «АгроКомплексо-2006») (Уфа, 2006).

Опубликованы в рецензируемом журнале:

- Экологические системы и приборы № 9 – 2005. – С.56-57.

Настоящая работа выполнена в соответствии с тематикой научных исследований ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет» (номер государственной регистрации 01.86.0-07.68.78).

1.7. Публикация результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ.

1.8. Внедрение результатов исследований: опытно-производственные испытания проведены в СПК «Колхоз Октябрь» Кутарчинского района, в ИП «Ханафина Ф.З.» Уфимского района Республики Башкортостан.

1.9. Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений, списка использованной литературы и приложения, включающего 155 источников, из них 122 отечественных и 33 зарубежных авторов. Работа изложена на 116 страницах машинописного текста, содержит 28 таблиц и 10 рисунков.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Экспериментальная часть исследования проведена на 212 неинбредных, половозрелых мышах обоего пола массой 18-20 г, 116 мышах линии C₃₇, В1, и 116 мышах линии СВА, на 248 беспородных половозрелых крысах массой 160–180 г, 20 кроликах, полученных из питомника и на 5 баранах. В опытах использованы 120 поросят крупной белой породы больных неспецифической катаральной бронхопневмонией массой 40-50 кг в возрасте 4-6 месяцев.

Лабораторные животные содержались в одинаковых зоогигиенических условиях вивария. Белые мыши содержались по 30-40 голов, белые крысы по 20-25 голов в специальных клетках. Кормление животных проводили согласно суточной потребности с использованием индивидуальных особенностей согласно видовому и половозрастному составу групп (Ковалевский К.Л., 1968).

В качестве препарата сравнения использовали МАОП.

Изучение острой токсичности композиции Полизон+Ретинола ацетат проводили по общепринятым методам (Саночкий И.В., 1970; Елизарова О.Н., 1971) на белых беспородных мышах и крысах.

Действие изучаемых соединений на активность антигенспецифических Т- супрессоров определяли по методу Whisler R., Stobo I., (1975).

Для определения фагоцитарной активности нейтрофилов крыс, использовали метод Coleman D., Culver K., Ryan J., 1985; Malaise M.C., Mahieu P.R. 1985.

Реакция бласттрансформации лимфоцитов: с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов изучаются in vitro функциональные показатели лимфоцитов. Реакцию бласттрансформации осуществляли с лимфоцитами периферической крови крыс микрометодом по Хоробрых В.В. (1983).

Реакцию трансплантат против хозяина (РТПХ) для оценки влияния композиции Полизон+Ретинола ацетат на звено клеточного иммунитета использовали метод количественной оценки РТПХ.

Функциональную активность перитонеальных макрофагов оценивали по способности восстанавливать нитросиний тетразолий в формазан под действием продуктов оксидазной реакции при активации макрофагов («дыхательный взрыв») (Schopf R.F., Mattar J., Meyenburg W. et al., 1984).

Воздействие препаратов на функциональную способность Т-эффекторов изучали в реакции гиперчувствительности замедленного типа, спровоцированной динитрофторбензолом, растворенным в ацетоне (J. Кнор et al., 1982). Интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа определяли как разницу в массах опытного и контрольного уха, выраженную в процентах (J.P. Tarayre, K. Sauresserques, 1980).

Противовоспалительная активность была изучена на общепринятых моделях воспаления, вызванного дрожжами, формалином, яичным белком, нитратом серебра (Тринус Ф.П., Мохорт Н.А., Клебанов Б.М., 1975; Саратиков А.С., Прищеп Т.П., Яворовская В.Е., 1975).

Влияние композиции Полизон+Ретинола ацетат на изменение массы тела и внутренних органов изучали на беспородных белых крысах с живой массой 160-180 г. Массу тела и внутренних органов определяли путем взвешивания на электронных весах марки AND HL-200.

Гематологические показатели крови: число эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина определяли в стабилизированной гепарином крови по общепринятым методикам с помощью камеры Горяева и гемометра Сали. (Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., 1974). В сыворотке определяли резервную щелочность по Неводову, СОЭ по Панченкову и общий белок на рефрактометре ИФР-22.

Гистологические исследования проводили для изучения микроструктуры органов и тканей. Кусочки органов и тканей животных фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После формалиновой фиксации препараты промывали в проточной воде в течение суток. Проводку и заливку осуществляли по общепринятым методикам (Меркулов Г.А., 1969). Уплотнение материала осуществляли путем заливки в парафин. После этого готовили серийные парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145, окраску проводили гематоксилином и эозином (Кононский А.И., 1976).

Микроскопические исследования проводились с использованием светового микроскопа JENAVAL фирмы «CARL ZEISS» (Германия).

Статистическую обработку цифровых данных проводили с использованием прикладной программы MS Excel®, включающей подсчет средних величин (M), средней ошибки (m), среднеквадратичных отклонений выборки (δ), определение степени достоверности по Стъуденту (Стрелков Р.Б., 1996).

2.2. Результаты собственных исследований

2.2.1. Изучение острой токсичности композиции Полизон+Ретинола ацетат

Композицию Полизон+Ретинола ацетат вводили в разных дозах от 1000 мг/кг до 4000 мг/кг.

Результаты данной серии опытов представлены в таблице 1.

Среднесмертельная доза композиции Полизон+Ретинола ацетат для белых мышей составила: $2028,5 \pm 58,53$ мг/кг, для крыс $2677,5 \pm 84,46$ мг/кг.

Среднесмертельная доза Полизона для белых мышей составила: $1070,0 \pm 89,40$ мг/кг, для крыс $1454,17 \pm 79,32$ мг/кг.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами установлено, что Полизон и композиция Полизон+Ретинола ацетат согласно ГОСТа 12.1.00.7-76 относится к III классу опасности (малоопасные вещества).

Таблица 1 - Острая токсичность композиции Полизон+Ретинола ацетат и Полизона

Вид животного	Кол-во животных в группе	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄	Коэф фициент вариабель ности смертель ных доз
Композиция Полизон+Ретинола ацетат					
Мыши	24	1840,0	2028,5±58,53	2326,0	1,26
Крысы	24	2443,0	2677,5±84,46	2906,0	1,18
Полизон					
Мыши	24	760,0	1070,0±89,40	1440,0	1,89
Крысы	24	1130,0	1454,17±79,32	1760,0	1,56

2.2.2. Иммунологические показатели композиции Полизон + Ретинола ацетат

Актуальной задачей современной фармакологии является поиск путей регуляции иммунитета лекарственными средствами. Большой интерес она приобрела в связи с детальным изучением биохимических процессов, лежащих в основе иммунных реакций.

Важным аспектом поддержания иммунного гомеостаза организма является фагоцитарная активность нейтрофилов. При иммунодефицитах может нарушаться фагоцитарная функция нейтрофилов, в результате чего наблюдается повышение концентрации циркулирующих иммунных комплексов (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1981), расстройство захвата микробов, что может быть следствием ослабленного метаболизма при активации нейтрофилов (Fulop T et.al., 1985). При применении композиции Полизон+Ретинола ацетат в дозе 2мг/кг+3000МЕ/кг повышение фагоцитарного индекса достигается за счет увеличения числа активных фагоцитов (88,1±3,00; в контроле 73,1±4,22), и фагоцитарного индекса за счет работающих клеток и их индивидуальной активности (4,83±0,72; в контроле 2,49±0,22), а также способствует повышению фагоцитарной активности нейтрофилов, за счет увеличения среднего числа активных фагоцитов (58,3±4,2; в контроле 24,2±3,2), и интенсивности фагоцитоза (1,33±0,08; в контроле 1,02±0,06). Усиление фагоцитарной активности нейтрофилов при применении композиции Полизон+Ретинола

ацетат, по нашему мнению, связано с анаболическим эффектом Полизона. Композиция Полизон+Ретинола ацетат усиливала наработку кислородных радикалов в фагоцитах, независимо от характера индуктора. Композиция Полизон+Ретинола ацетат аналогично МАОП, стимулирует поглотительную способность фагоцитов.

Процесс превращения лимфоцитов на искусственной питательной среде в различные промежуточные формы называют – бласттрансформацией (РБТ).

Индекс стимуляции составил при применении композиции Полизон+Ретинола ацетат в дозе 2 мг/кг+3000 МЕ/кг – $4,3 \pm 1,5$, а в контроле $3,2 \pm 1,4$.

Композиция Полизон + Ретинола ацетат не изменяет реакцию «Трансплантат против хозяина» РТПХ.

Средний индекс реакции по массе у композиции Полизон + Ретинола ацетат равен $4,91 \pm 0,49$, а у Полизона $4,99 \pm 0,53$.

Нами изучено влияние композиции Полизон+Ретинола ацетат на некоторые функции макрофагов: способность к фагоцитозу частиц латекса, восстановление нитросинового тетразолия (НСТ) в диформаза, а так же лизосомальную активность этих клеток. Композиция Полизон+Ретинола ацетат в дозе 2мг/кг+3000МЕ/кг стимулировала не только активность, но и интенсивность фагоцитоза, что нашло отражение в повышении фагоцитарного числа ($4,59 \pm 0,39$; контроль – $3,91 \pm 0,32$).

Нами отмечено регулирующее влияние на мононуклеарные фагоциты композиции Полизон+Ретинола ацетат при введении в дозе 2 мг/кг+3000 МЕ/кг, при этом отмечалось увеличение процентного количества макрофагов, фагоцитирующих частиц латекса, при неизменном показателе фагоцитарного числа ($72,3 \pm 3,3$; в контроле – $50,1 \pm 1,6$).

Композиция Полизон+Ретинола ацетат увеличивала содержание клеток с отложением диформаза в цитоплазме и повышал индекс активации макрофагов в НСТ – тесте ($0,44 \pm 0,39$; в контроле $0,29 \pm 0,01$).

Действие композиции Полизон+Ретинола ацетат на клеточный иммунный ответ оценивали в реакциях гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к эритроцитам барана и динитрофторбензола на мышах линии $C_{57}BL$, СВА.

Композиция Полизон+Ретинола ацетат угнетает РГЗТ у мышей линии $C_{57}BL$, как при профилактическом введении ($13,8 \pm 1,7$, в контроле – $20,1 \pm 2,1$), так и при лечебном применении ($12,2 \pm 1,22$, в контроле – $16,2 \pm 1,29$). Аналогичные изменения отмечаются и мышей линии СВА. Композиция Полизон+Ретинола ацетат, угнетает РГЗТ, как при профилактическом введении ($15,0 \pm 1,22$, в контроле – $17,8 \pm 1,52$) так и при лечебном применении ($15,2 \pm 1,39$, в контроле – $16,2 \pm 1,85$). При оптимальной антигенной нагрузке иммуностимулирующий эффект композиции Полизон + Ретинола ацетат оказывал при применении в дозе 3 мг/кг +3000 МЕ/кг ($34065,0 \pm 3012,0$;

в контроле – $13592,0 \pm 2000,0$). На фоне антигенной стимуляции меньшим количеством эритроцитов барана (5×10^7 клеток) усиление антителообразования достигалось в дозах 2 мг/кг + 3000 МЕ, при этом число антителообразующих клеток в селезенке увеличивалось в среднем в 1,5 раза ($88695,0 \pm 10255,0$; в контроле – $56000,0 \pm 4822,0$).

Композиция Полизон + Ретинола ацетат и Полизон повышают уровень сенсibilизированных лимфоцитов, что выражается в увеличении количества розеткообразующих клеток. По сравнению с контрольной композиция Полизон + Ретинола ацетат значительно увеличивает количество розеткообразующих клеток ($60,3 \pm 5,32$; в контроле – $26,7 \pm 2,11$).

2.2.3. Противовоспалительные свойства композиции Полизон+Ретинола ацетат

Сравнительная противовоспалительная активность композиции Полизон+Ретинола ацетат и известных антифлогистиков зависит от модели воспаления. Композиция Полизон+Ретинола ацетат, обладающая противовоспалительными свойствами, выгодно отличается от основных групп нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) своей способностью стимулировать регенерацию и репаративные процессы, а также обладает антиульцерогенными свойствами. Противовоспалительная активность, вызванная дрожжами, при применении композиции Полизон + Ретинола ацетат в дозе 2 мг/кг + 3000 МЕ составила – 36,28 %; при применении Полизона в дозе 2 мг/кг – 33,60 %; в дозе 3 мг/кг – 29,93 %; в дозе 5 мг/кг – 27,14 %; при введении ортофена – 26,80%. На фоне воспаления, вызванного дрожжами, действие композиции Полизон + Ретинола ацетат превосходило действие ортофена. При применении в качестве флагогена раствора формалина противовоспалительная активность композиции Полизон + Ретинола ацетат составила в дозе 2 мг/кг + 3000 МЕ – 34,11%; противовоспалительная активность Полизона составила в дозе 2 мг/кг – 33,13%; в дозе 3 мг/кг – 25,73%; в дозе 5 мг/кг – 13,79%; при введении ортофена 20,67%. При применении в качестве флагогена яичный белок противовоспалительная активность композиции Полизон + Ретинола ацетат составила в дозе 2 мг/кг + 3000 МЕ – 31,25%; противовоспалительная активность Полизона в дозе 2 мг/кг – 28,92%; в дозе 3 мг/кг – 24,67%; в дозе 5 мг/кг – 13,25%; при введении ортофена 20,18%. При применении в качестве флагогена нитрата серебра противовоспалительная активность композиции Полизон + Ретинола ацетат составила в дозе 2 мг/кг + 3000 МЕ – 29,38%; противовоспалительная активность Полизона составила в дозе 2 мг/кг – 26,33%; в дозе 3 мг/кг – 23,31%; в дозе 5 мг/кг – 17,13%; а ортофена – 18,65%.

Установлено, что при увеличении дозы Полизона до 5 мг/кг отмечается наименьший противовоспалительный эффект.

В результате исследований установлено, что при применении в качестве флагогена раствора дрожжей композиция Полизон + Ретинола ацетат проявляет наибольшую противовоспалительную активность в дозе 2 мг/кг+3000 МЕ/кг. При использовании в качестве флагогена нитрата серебра, яичного белка, формалина, композиция Полизон + Ретинола ацетат проявляет слабую противовоспалительную активность, однако противовоспалительная активность ортофена ниже, чем у исследуемой композиции.

Видимо, способность композиции Полизон + Ретинола ацетат активировать регенерацию связана с разными механизмами. Влияние на пролиферацию и противовоспалительный эффект является следствием стимуляции надпочечников.

2.2.4. Влияние композиции Полизон+Ретинола ацетат на гематологические показатели поросят

Объективную оценку уровня и направления обмена веществ, интерьерных качеств животных, состояния их здоровья и течение патологического процесса в организме дает исследование гематологических показателей крови. Периферическая кровь является одним из важных связующих звеньев всего организма, обеспечивающих питание и дыхание всех органов и систем и снабжающих органы и ткани необходимыми ферментами, гормонами, медиаторами, витаминами, антителами и другими гуморальными веществами, без которых нормальное функционирование организма невозможно. (Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., 1969).

Животным I группы задавали Полизон в дозе 5мг/кг, II группе – композицию Полизон+Ретинола ацетат в дозе 5мг/кг + 550 МЕ/кг, III группе Ретинола ацетат в дозе 550МЕ, а IV бензилпенициллин в дозе 600000 ЕД, V группа служила контролем.

На пятнадцатый день лечения, после применения композиции Полизон + Ретинола ацетат процентное количество эозинофилов снизилось до $10,3 \pm 0,64\%$, моноцитов до $2,3 \pm 0,22\%$, лимфоцитов увеличилось до $48,2 \pm 3,04\%$. Необходимо отметить, что лимфоциты имеют непосредственное отношение к иммунобиологической защите организма и отражают степень ее развития.

Количество общего белка повысилось до $8,1 \pm 0,74\%$, альбуминов до $47,8 \pm 3,24\%$, резервная щелочность до $49,6 \pm 3,25\%$ об CO_2 , количество глобулинов снизилось: α – глобулины до $16,6 \pm 1,52\%$, β – глобулины до $17,6 \pm 1,23\%$, γ – глобулины до $20,5 \pm 1,23\%$. СОЭ снизилось до $6,3 \pm 0,58$ мин. (таблица 2).

Таким образом, применение композиции Полизон + Ретинола ацетат приводит к стабилизации гематологических, биохимических показателей и оказывает положительное влияние на метаболические процессы в организме больных поросят.

Таблица 2 - Влияние композиции Полизон+Ретинола ацетат на биохимические показатели крови поросят
(15 день лечения)

Название соединения	№ группы	Кол-во жив-х, гол	Доза, Мг/кг, МЕ/кг	Показатели крови на пятнадцатый день лечения						
				Общий белок, г%	Альбумины, %	α-глобулины, %	β-глобулины, %	γ-глобулины, %	Щелочной резерв, ОБ%CO ₂	СО ₂ , ммг.
Полизон	I	8	5	8,0±0,76	41,7±3,56	17,5±1,42	20,5±1,56	22,4±1,25	46,4±3,44	7,4±0,56
Полизон+Ретинола ацетат	II	8	5+550	8,1±0,74	47,8±3,24	16,6±1,52	17,6±1,23	20,5±1,23	49,6±3,25	6,3±0,58
Ретинола ацетат	III	8	550	7,9±0,75	40,5±3,46	18,7±1,23	19,2±1,22	23,2±1,24	45,5±3,21	8,2±0,66
Бензилпенициллина натриевая соль	IV	8	600000ЕД	8,1±0,73	41,4±3,42	17,8±1,78	20,8±1,75	22,2±1,32	46,6±3,21	7,8±0,51
Контроль	V	8	—	7,6±0,72	30,6±3,48	22,4±1,21	23,4±1,11	25,1±1,35	38,2±3,26	11,1±0,87

2.2.5. Применение композиции Полизон +Ретинола ацетат для повышения продуктивности и сохранности поросят

Одной из проблем с которой встречаются свиноводческие хозяйства является низкая жизнеспособность и снижение прироста массы тела. Учитывая вышеизложенное, нами были проведены исследования, направленные на установление влияния композиции Полизон +Ретинола ацетат на увеличение прироста массы тела и сохранности поросят.

Животные были распределены на 3 группы поросят в возрасте 4 месяцев, со средней живой массой 40–50 кг по принципу аналогов по 20 голов в каждой. Наблюдение за животными вели в течение 30 дней. Взвешивание поросят проводили в начале и в конце опыта. Животным первой группы задавали Полизон в дозе 5мг/кг, второй группе – композицию Полизон+Ретинола ацетат в дозе 5мг/кг + 550 МЕ, третья группа служила контролем.

Таблица 3 - Показатели среднесуточного прироста массы и сохранности поросят

Наименование препарата	Количество животных в группе, гол.	Масса поросят до опыта, кг.	Масса поросят после опыта, кг	Пало во время опыта, гол.	Абсолютный прирост, кг	Относительный прирост, %	Среднесуточный прирост, кг
Полизон	20	48,2±4,22	60,3±2,04	2	12,1	25,10	0,365±0,13
Полизон+ Ретинола ацетат	20	47,9±4,25	61,5±2,14	1	13,5	28,18	0,450±0,12
Контроль	20	47,8±4,21	54,1±2,5	4	6,3	13,70	0,210±0,10

Анализ таблицы 3 показывает, что поросята опытных групп имели различную интенсивность роста. Так у поросят первой группы получавших Полизон в дозе 5 мг/кг среднесуточный прирост составил 0,365±0,13 кг, а у поросят второй опытной группы 0,450±0,12 кг. Следует отметить, что из первой опытной группы пало 2 поросенка, во второй – 1, а в контрольной группе пали 4 заболевших бронхопневмонией поросят.

Таким образом, введение в рацион композиции Полизон+Ретинола ацетат в дозе 5 мг/кг+550 МЕ/кг оказывает положительное влияние на обменные процессы о чем свидетельствуют прирост массы и сохранность поросят.

2.2.6. Концентрация гистамина и серотонина в крови животных, больных бронхопневмонией

В патогенезе бронхопневмонии активно участвуют биологически активные вещества. Среди них важная роль принадлежит гистамину и серотонину. В этой связи большой интерес представляет их содержание у поросят, больных бронхопневмонией в различные стадии воспалительного процесса.

Высокое содержание гистамина в крови регистрировали во время осложнений и приступов болезни (повышение температуры тела, кашель, одышка, лейкоцитоз, увеличение скорости оседания эритроцитов и носовые истечения.) В этот период в крови поросят концентрация гистамина превышала допустимые нормы в 4,5 раз. По-видимому, гистамин в крови в момент выраженных клинических симптомов увеличивается за счет их выброса тучными клетками. В отношении серотонина в крови аналогичную закономерность не выявили.

Содержание серотонина в крови клинически здоровых поросят колебалось от 3,6 до 14,4мкг/мл. Отношение серотонина и гистамина составляло 1:0,50. В крови больных поросят – 3,6-7,9мкг/мл. Отношение серотонина и гистамина составляло 1:1,28. Выявленные изменения в обмене гистамина и серотонина и в их соотношении свидетельствуют о том, что организм животных отвечает совокупностью приспособительных реакций, предотвращающих возможный сдвиг в составе внутренней среды.

Для изучения изменения содержания серотонина и гистамина в тканях животных в опыте использовали 20 кроликов. Бронхопневмонию у них вызывали интрахеальным введением 0,5 мл 2,5 %-ного раствора медного купороса. В тканях легких здоровых кроликов содержалось $2,26 \pm 0,35$ мкг/мл гистамина, печени – $4,52 \pm 0,13$, желудка – $1,12 \pm 0,05$, двенадцатиперстной кишки – $1,14 \pm 0,02$, тощей кишки – $1,34 \pm 0,12$, ободочной кишки – $1,42 \pm 0,33$, и скелетной мышцы – $5,12 \pm 0,34$ мкг/г. В исследуемых тканях больных кроликов нами отмечено незначительное повышение концентрации гистамина (от 1,24 до 2,35%). В скелетных мышцах, наоборот, отмечено уменьшение его на 9,34%. Уровень серотонина в тканях легких здоровых кроликов составлял $5,66 \pm 0,15$ мкг/г, печени – $12,12 \pm 0,98$, желудка – $7,40 \pm 0,38$, двенадцатиперстной кишки – $5,39 \pm 0,79$, тощей кишки – $5,56 \pm 0,43$, ободочной кишки – $5,48 \pm 0,25$ и скелетной мышцы – $7,83 \pm 0,86$ мкг/г.

В тканях легких больных животных содержание серотонина снижено на 52,9 %, а в печени, желудке, двенадцатиперстной, тощей, ободочной кишок и

скелетной мышцы количество его резко повышено – соответственно на 60,9; 86,6; 185; 187; 121 и 130 %. Нами установлены противоположно направленные сдвиги при определении соотношения между содержанием гистамина и серотонина в легких и скелетной мышце больных животных – 1:0,94 и 1:0,27, в печени – 1:0,34, желудке – 1:0,12, двенадцатиперстной кишки – 1:0,12, тощей кишки – 1:0,12 и ободочной кишки – 1:0,23.

Следовательно, складывающиеся соотношения гистамина и серотонина в органах могут служить показателем участия их в регуляции гомеостатических функций организма при патологии. Композиция Полизон+Ретинола ацетат относится к средствам, препятствующим освобождению из сенсибилизированных тучных клеток и базофилов – гистамина. Соотношение серотонина и гистамина в крови после лечения поросят композицией Полизон+Ретинола ацетат составило 1:0,50.

Изменение обмена веществ биологически активных веществ у животных при бронхопневмонии свидетельствуют о понижении иммунобиологической реактивности и его адаптационных возможностей, а сравнительное их определение дает возможность прогнозировать течение патологического процесса и управлять гомеостатическими функциями.

2.2.7. Влияние новой композиции Полизон +Ретинола ацетат на структуру легких поросят, больных бронхопневмонией

При вскрытии у погибших животных в легких был отмечен геморрагический отек с характерными сосудистыми расстройствами: сосуды микроциркуляторного русла сильно кровенаполнены, отмечена дилатация и парез их стенок, диссеминированный тромбоз сосудов, особенно капилляров стенок альвеол, пери- и посткапилляров, а также плазматическое пропитывание и фибриноидный некроз стенки сосудов, отек, очаговые диффузные кровоизлияния в периваскулярной, перибронхиальной и интерстициальной соединительной ткани, выход эритроцитов в альвеолы, бронchioлы и бронхи. В некоторых альвеолах имелось незначительное количество серозного экссудата. Просветы бронхов заполнены экссудатом, содержащим в различных соотношениях лимфоциты и эритроциты. Эпителий слизистой оболочки в состоянии пролиферации и десквамации. Собственная пластинка слизистой оболочки бронхов, перибронхиальная и интерстициальная соединительная ткань инфильтрирована серозно-фибринозным экссудатом и лимфоидными клетками. Их много в перибронхиальной и мало в интерстициальной соединительной ткани, которая пронизана очагами кровоизлияний.

С целью изучения влияния новой композиции «Полизон+Ретинола ацетат» нами были сформированы группы поросят, больных катаральной бронхопневмонией. У животных I группы, больных катаральной бронхопневмонией, получавших для сравнительной характеристики бензилпенициллина натриевую соль в дозе 600000 ЕД в течение первых шести

дней, при макроскопических исследованиях выявлено, что в легких обнаруживаются мелкие пневмонические очаги, которые в некоторых участках образуют слияния, в результате чего очаги становятся больших размеров с инфильтрированными участками и располагаются вблизи нижнего и переднего края легких. При гистологическом исследовании легких выявлено, что форма пневмонии, установленная в результате клинических, патоморфологических и лабораторных исследований, соответствует данным катаральной бронхопневмонии и имеет ряд существенных признаков. Слизистая оболочка респираторного тракта гиперемирована, имеются стазы, кровоизлияния, диффузный отек. Отмечаются пролиферативные и инфильтративные процессы такие как гиперемия эпителия, диффузная лимфоидногистиоцитарная инфильтрация слизистой оболочки. В легком свиньи в отдельных сосудах выявлен застой крови, в перибронхиальных участках некоторых бронхов определяется небольшое количество клеточных инфильтратов. В некоторых крупных сосудах выявлен незначительных застой крови и отек сосудистой стенки.

При гистологическом исследовании легких, свиней, больных катаральной бронхопневмонией, на 8-ые сутки применения композиции Полизон+Ретинола ацетат в дозе 5 мг/кг + 550 МЕ/кг, гистологическая картина в легких больных поросят произошли следующие изменения: выявлено, что легкие имеют плотную консистенцию, при разрезе структура зернистая. В пневмонических очагах, в просвете альвеол содержатся преимущественно мононуклеарный экссудат, состоящий из незначительно крупных макрофагов, мелких лимфоцитов и с небольшим количеством лейкоцитов и многочисленных эритроцитов. В некоторых местах альвеолы густо заполнены клеточным экссудатом, здесь же наряду с одноядерными элементами содержится повышенное количество полиморфноядерных лейкоцитов. Вокруг бронхов и сосудов наблюдается значительная лимфогистиоцитарная инфильтрация. Клеточные скопления опоясывают бронхи в сплошные кольца, в результате чего бронхи имеют звездчатый вид. Внутри бронхов отмечено скопление обильного лейкоцитарного экссудата, в некоторых более выраженных пневмонических участках экссудат закрывает просвет бронхов. Также наблюдается расширение и инфильтрация соединительно-тканными клетками междольковых перегородок легких поросят. В просвете альвеол жидкого экссудата сравнительно мало, преобладают клетки респираторного эпителия, лимфоциты, молодые фибробласты, лейкоциты. Легочная ткань заметно уплотнена с подвержением гиалинизации. Лейкоцитарный экссудат, закрывающий просвет бронхов и бронхиол, уменьшается, а эпителий бронхов находится на стадии восстановления. Уменьшается расширение и инфильтрация соединительно-тканными клетками междольковых перегородок легких. Сжатие бронхов уменьшается, в результате чего отмечено очищение от вязкого экссудата дыхательной поверхности бронхов.

На 15-ые сутки после начала лечения пневмонические очаги

рассасываются, отмечается незначительное количество экссудата в просвете альвеол. Просвет бронхов расправляется, эпителий значительно очищен от экссудата, признаки перибронхита исчезают, лимфоидные пролифераты вокруг бронхов уменьшаются. Альвеолярная структура легких ярко выражена. Междольковые перегородки в легких истончаются, в результате чего это свидетельствует о морфофункциональном восстановлении легких свиней, а также значительном снижении воспалительной реакции.

Применение композиции Полизон+Ретинола ацетат с лечебной целью в дозе 5мг/кг+550 МЕ/кг приводит к морфофункциональному восстановлению структуры легких поросят, а также значительному снижению воспалительной реакции.

3. ВЫВОДЫ

1. Применение композиции Полизон+Ретинола ацетат с лечебной целью в дозе 5мг/кг+550 МЕ/кг приводит к морфофункциональному восстановлению структуры легких поросят, а также значительным снижением воспалительной реакции.
2. Введение в рацион поросят композиции Полизон+Ретинола ацетат оказывает положительное влияние на пророст массы тела и сохранность поросят.
3. Композиция Полизон+Ретинола ацетат относится к средствам, препятствующим освобождению из сенсибилизированных тучных клеток и базофилов – гистамина. Соотношение серотонина и гистамина в крови после лечения поросят композицией Полизон+Ретинола ацетат составило 1:0,50.
4. Введение в рацион композиции Полизон+Ретинола ацетат в дозе 5мг/кг+550 МЕ/кг оказывает положительное влияние гематологические и биохимические показатели крови больных бронхопневмонией поросят о чем свидетельствует незначительная эозинофилия, моноцитопения сопровождающаяся лимфоцитозом, увеличением общего белка, альбуминов, резервной щелочности, снижением глобулинов и СОЭ
5. При использовании в качестве флагогена дрожжей, нитрата серебра, яичного белка, формалина композиция Полизон+Ретинола ацетат проявляет большую противовоспалительную активность, чем ортофен широко применяемый и в медицине и в ветеринарии.
6. Реализация иммуностимулирующего действия композиции Полизон+Ретинола ацетат осуществляется путем усиления активности антигенспецифических Т – супрессоров в первичном иммунном ответе, активизирующего влияния на процесс фагоцитоза нейтрофилов, стимуляции бласттрансформации лимфоцитов, стимуляции прироста числа антителопродуцентов на фоне субоптимальной иммунизации мышей и повышения уровня сенсибилизированных лимфоцитов, что выразалось в

увеличении количества розеткообразующих клеток.

7. Среднесмертельная доза композиции Полизон+Ретинола ацетат составила: для белых мышей – $2028,5 \pm 58,53$ мг/кг; для белых крыс – $2677,5 \pm 84,46$ мг/кг, согласно ГОСТа 12.1.00.7–76 композиция Полизон+Ретинола ацетат относится к III классу токсичности (малоопасные вещества).

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Композиция Полизон+Ретинола ацетат рекомендуется для применения в свиноводстве в качестве препарата, повышающего резистентность организма, для лечения бронхопневмонии поросят и ростостимулирующего средства.

Препарат рекомендуется применять в дозе 5мг/кг + 550 МЕ в течение 5-15 дней с лечебной целью в зависимости от тяжести заболевания.

Композиция Полизон+Ретинола ацетат применяется для улучшения и поддержания продуктивного здоровья животных.

5. СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Сафина, Л.Р. Противовоспалительные свойства Полизона/Л.Р. Сафина, А.Ф. Исмагилова, Б.П. Струнин.//Международная научно-практическая конференция «Наука - сельскохозяйственному производству и образованию», Смоленск, 2004. – С.295-298.

2. Сафина, Л.Р. Влияние Полизона на массу тела и внутренних органов/Л.Р. Сафина, А.Ф. Исмагилова //Материалы XII Российского национального конгресса «Человек и лекарство», Москва, 2005. – 793с.

3. Сафина, Л.Р. Влияние Полизона на активность антигенспецифических Т-супрессоров в первичном иммунном ответе/Л.Р. Сафина, А.Ф. Исмагилова, Р.Ф. Халимов //Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современное развитие АПК: региональный опыт, проблемы, перспективы», Ульяновск, 2005. - С.344-346.

4. Исмагилова, А.Ф. Влияние Полизона на фагоцитоз/А.Ф.Исмагилова, Л.Р. Сафина //Материалы XVII Международной межвузовской научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии», Санкт-Петербург, 2005. – С.113.

5. Исмагилова, А.Ф. Влияние Полизона на реакцию бласттрансформации/А.Ф. Исмагилова, Р.Ф. Халимов, Л.Р. Сафина // Международная научно-практическая конференция «Проблемы и перспективы ветеринарии в XXI веке», Улан-Удэ, 2005. – С.83-84.

6. Сафина, Л.Р. Влияние Полизона, композиции Полизон + Ретинола ацетат на иммунную систему лабораторных животных/Л.Р. Сафина, А.Ф. Исмагилова //Международная конференция «Средства и методы

обеспечения экологической безопасности», Астрахань, 2005. – С.56-57.

7. Сафина, Л.Р. Влияние композиции Полизон+Ретинола ацетат на гематологические показатели свиней/Л.Р. Сафина //Конференция СМУ «Перспективные направления научных исследований молодых ученых и студентов Урала и Сибири», Троицк, 2005. – С.134-136.

8. Сафина, Л.Р. Влияние композиции Полизон+Ретинола ацетат на биохимические показатели крови поросят/Л.Р. Сафина//Конференция СМУ «Перспективные направления научных исследований молодых ученых и студентов Урала и Сибири», Троицк, 2005. – С.136-138.

9. Сафина, Л.Р. Концентрация гистамина и серотонина в крови животных, больных бронхопневмонией/Л.Р. Сафина // Всероссийская научно-практическая конференция «Перспективы агропромышленного производства регионов России в условиях реализации приоритетного национального проекта «РАЗВИТИЕ АПК»(в рамках XVI Международной специализированной выставки «АгроКомплекс-2006») Уфа, 2006.– С.94-96.

10. Файзуллина, Л.Р. Биохимические показатели крови поросят при использовании композиции Полизон+Ретинола ацетат/Л.Р. Файзуллина// Материалы 17-й научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии». – Санкт-Петербург, 2006. – С.66.

На правах рукописи

**ФАЙЗУЛЛИНА
ЛАРИСА РАДИКОВНА**

**ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОЙ
КОМПОЗИЦИИ ПОЛИЗОН+РЕТИНОЛА АЦЕТАТ И ЕЕ
ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ БРОНХОПНЕВМОНИИ ПОРОСЯТ**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Казань – 2006

Подписано в печать 14.11.06. Заказ 30
Формат А5. Тираж 100 экз.
Отпечатано в типографии ФГУ «ФЦТРБ» (г. Казань)
Адрес: 420075, г. Казань, Научный городок-2

Казань, 116с.л. – 92 – 110

