

*На правах рукописи*

**БАРЬШЕВ**  
**Дмитрий Юрьевич**

**МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У  
КОТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ**  
(клинико-экспериментальное исследование)

16.00.02. - патология, онкология и морфология животных

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Саранск - 2005

Работа выполнена в ФГОУ ВПО Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия на кафедре анатомии, фармакологии и патофизиологии

Научные руководители: доктор ветеринарных наук, профессор  
**Пахмутов Игорь Аркадьевич**  
кандидат ветеринарных наук, профессор  
**Шашанов Иван Романович**

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор  
**Бочкарев Виталий Николаевич**  
доктор ветеринарных наук, профессор  
**Селезнев Сергей Борисович**

Ведущая организация: ГНУ «Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечерноземной зоны РФ», г. Нижний Новгород

Защита диссертации состоится « 30 » июня 2005 г.  
в 14 часов на заседании диссертационного совета К212.117.05 при  
Мордовском государственном университете имени Н.П. Огарева  
по адресу: 430000, г. Саранск, ул. Большевикская, 68.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке  
Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева

Автореферат разослан « 29 » мая 2005 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Т.А. Романова

## 1. Общая характеристика работы

### 1.1 Актуальность темы.

В последние два десятилетия в России и за ее пределами регистрируется повышение частоты случаев заболеваний нижних отделов мочевыводящих путей (ЗНОМП) у котов, основное место среди которых занимает МКБ — мочекаменная болезнь, нередко заканчивающаяся летальным исходом (А.В. Валова, 1999; О.И. Динченко, 2001, 2002; И.В. Иноземцева, 2002; Е.М. Козлов, 2002; Б.М. Анохин и др., 2003; Р.Г. Markwell, В.Н.Е.\* Smit, 1998 и др.). МКБ вызывается широким спектром причинных факторов, которые условно можно подразделить на истинные и предрасполагающие.

Первыми следует считать самые разнообразные отклонения в обменных процессах, обусловленные прежде всего несбалансированным, нерегулярным, смешанным кормлением кошек на фоне дефицита питьевой воды, ее низкого качества и, наконец, отрицательного влияния на мочевыделительную систему различных заболеваний других органов и систем (О.И. Динченко, 2001, 2003; И.В. Иноземцева, 2002; С.С. Соколенко, 2004; J.Elliott et al., 1998 и др.)

Предрасполагающими этиологическими факторами, как считают многие авторы, является все *то*, что связано с анатомо-физиологическими особенностями организма котов — архитектура и структура нижних отделов мочевыводящих путей, продолжительное нахождение мочи в мочевом пузыре, ее высокая удельная плотность, повышенная концентрация органических и неорганических соединений, способных к кристаллизации даже без пресыщения мочи солями, чему способствует весьма узкий «коридор» антикристаллизационного эффекта рН мочи (6 - 6,5) в сочетании с относительно высоким уровнем функционально-метаболических отравлений у этого вида домашних животных (С.А.Т. Buffington et al., 1997; P.V. Scrivani et al., 1997 и др.).

В последнее время меняется и структура самой МКБ у котов, о чем свидетельствует учащение случаев этой болезни с наличием оксалатных уrolитов при достаточно высоком уровне распространения струвитной (фосфатной) формы болезни, что, по всей вероятности, связано с возрастом, с кормлением рационами, недостаточно сбалансированными по содержанию кальция, фосфора, витамина D, с гиперкальциемией неясного происхождения и т.п. (Б.М. Анохин и др., 2003; О.И. Динченко, 2003; С.С. Соколенко, 2004; J.M. Kruger et al., 1991; D.J. Chew et al., 1997, 1999 и др.).

С другой стороны, по мере раскрытия отдельных сторон этиологии и патогенеза МКБ у котов, разрабатываются и предлагаются специальные диетические корма, лекарственные препараты, совершенствуются диагностические, хирургические, лечебно-профилактические схемы лечения, позволяющие в определенной мере не только снизить частоту летальных исходов, но и обеспечить достаточно комфортное существование животных при соблюдении необходимых правил их кормления и содержания (Г.В. Деева, 2001; С.В. Калина, 2001; А.Э. Левицкий и др., 2001; И.В. Иноземцева, 2002; М.С. Карелин, 2002; Е.М. Козлов, 2002; А.В. Липин, 2002; Г.А. Послов и др., 2003; М.В. Степаненко, 2003; А.В. Воейкова, 2004; В.Л. Никифорова и др.,

2004; Ж.Ф. Барде, 1998; W.G. Robertson, P.J. Markwell, 1999; D.J. Chew et al., 1999; A.E. Stevenson R et al., 2000; M. Debuc, 2003).

Однако в условиях современной России чаще в силу экономических и других обстоятельств кормление и содержание собак и кошек, особенно в мегаполисах, не всегда отвечает их физиологическим потребностям, что снижает их адаптационные возможности, ослабляя в то же время механизмы неспецифической и антиоксидантной защиты, иммунного статуса, что лежит в основе патогенеза многих заболеваний, в том числе и ЗНОМП.

В этом отношении МКБ у котов не составляет исключения, а раскрытие отдельных сторон ее патогенеза, выбор правильной терапевтической тактики, адекватной коррекции гомеостатических механизмов в конечном итоге определяет течение и исход заболевания.

### **1.2. Цель и задачи исследований.**

Целью работы явилось изучение клеточных и гуморальных факторов неспецифической защиты, процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояния АОЗ в норме и при комплексном лечении МКБ у котов, принадлежащих индивидуальным владельцам - гражданам г.Нижнего Новгорода.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Изучить клеточные и гуморальные факторы неспецифической защиты у клинически здоровых и больных МКБ котов.
2. Определить состояние ПОЛ и АОЗ у этих же животных (п. 1).
3. Дать оценку состояния кристаллографической картины мочи котов, больных МКБ;

### **1.3. Научная новизна.**

Проведена комплексная оценка изменений показателей неспецифической защиты (резистентности), активности свободнорадикальных процессов и АОЗ у животных в норме и при МКБ. Показано, что при МКБ они, в совокупности с другими этиологическими факторами, вносят определенность в выяснение еще недостаточно раскрытых сторон патогенеза заболевания, что, в свою очередь, расширяет возможности использования ряда лекарственных средств для комплексной терапии в сочетании с диетическим питанием наблюдаемых животных. Установлено, что наличие в уретре воспалительных изменений на начальных этапах МКБ вызывает у больных животных ослабление функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови (снижение фагоцитарной активности, фагоцитарного индекса, АВ-НСТ-теста), эозино- и лимфоцитопению.

Гуморальные факторы неспецифической защиты (БАС, ЛАС, БЛА - бактерицидная, лизоцимная и бета-лизинная активность сыворотки крови) претерпевают заметные сдвиги только при ярко выраженных воспалительных изменениях в уретре или при уроцистите.

В это же время у них обнаружено нарастание ПОЛ, что подтвердилось повышением уровня промежуточных молекулярных продуктов в виде диеновых и триеновых конъюгатов (ДК, ТК) и оснований Шиффа (ОШ) при ослаблении уровня общей антиоксидантной защиты (АОЗ).

Испытан в качестве дополнительного диагностического теста модифицированный нами метод клиновидной дегидратации свежих проб мочи от кастрированных и некастрированных котов (В.Н. Шабалин, С.Н. Шатохина, 2001).

**1.4. Теоретическая и практическая значимость работы** заключается в том, что она расширяет и углубляет теоретические представления о важных со всех точек зрения сторонах патогенеза МКБ у котов, включающих клеточные и гуморальные механизмы неспецифической резистентности организма животных, процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты.

Полученные результаты, на основе использования общепринятых и новых лабораторных методов исследования проб крови и мочи, способствуют обоснованному расширению выбора средств и способов для комплексного лечения МКБ у котов, включая специальные диеты.

#### **1.5. Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. В патогенезе МКБ у котов важную роль играет ослабление клеточных и гуморальных механизмов неспецифической (естественной) резистентности.
2. Избыточное накопление молекулярных продуктов ПОЛ и снижение уровня антиоксидантной защиты присуще патогенезу МКБ у котов.
3. Лечение котов, страдающих МКБ различной степени тяжести, наряду с применением широкой гаммы лекарственных средств патогенетической, симптоматической, заместительной, иммуномодулирующей терапии должно включать в качестве обязательного компонента специальные диетические корма.

#### **1.6. Реализация результатов исследований.**

Полученные результат используются в научных и учебных целях на кафедрах патофизиологии, физиологии и фармакологии Московской, Санкт-Петербургской, Казанской государственной академии ветеринарной медицины, Оренбургского ГАУ, Мордовского и Хакасского госуниверситетов, Уральской, Ивановской и Костромской ГСХА.

#### **1.7. Апробация работы и публикации.**

Материалы диссертации доложены на расширенном заседании кафедры анатомии, фармакологии и патофизиологии (2005 г.), на заседаниях методической комиссии и Ученого совета факультета ветеринарной медицины Нижегородской ГСХА (2002, 2003 гг.), на ежегодных научных конференциях сотрудников, аспирантов и студентов ФВМ Нижегородской ГСХА (2002, 2004 г.), Мордовского госуниверситета (2005), на X, XI и XIII Московских международных ветеринарных конгрессах (2002, 2003, 2005 гг.).

Основные положения диссертационной работы отражены в 3 опубликованных научных работах.

#### **1.8. Структура и объем диссертации.**

Диссертация изложена на 142 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов,

практических предложений. Работа содержит 9 рисунков и 15 таблиц. Библиографический список включает 156 источника, в том числе 84 иностранных.

## II. Собственные исследования и обсуждение полученных результатов

### 2.1. Материалы и методы исследований.

Работа выполнена на кафедре анатомии, фармакологии и патофизиологии Нижегородской ГСХА и в условиях зооветеринарного центра «Фауна» г. Нижнего Новгорода, ЦНИЛ ГОУ ВПО Нижегородской ГМА Минздрава РФ.

Материалом послужили кастрированные и некастрированные коты, принадлежащие индивидуальным владельцам г. Нижнего Новгорода за период с 2000 по 2004 год. За это время обследовано 582 животных разных пород с болезнями незаразной этиологии. Из них с симптомокомплексом ЗНОМП по результатам общеклинических и лабораторных анализов было выделено кастрированных (22) и некастрированных котов (31), с различной степенью тяжести течения МКБ, включая 7 котов, у которых дополнительно обнаруживалось наличие идиопатического цистита (табл. 1). Возраст наблюдаемых животных колебался в пределах от 6 до 10 лет.

Таблица 1.

Количество наблюдаемых и подвергнутых комплексному лечению котов по поводу МКБ (2000 - 2004 гг.)

Показатели	Обследовано 582 котов (кошек) из них с наличием МКБ:					
	Без обструкции уретры (I группа)		С частичной обструкцией уретры (II группа)		С полной обструкцией уретры (III группа)	
	Гол.	%	Гол.	%	Гол.	%
Подвергнуто лечению	27	51,0	19	35,8	7	13,2
Вылечено	25	92,6	15	78,9	4	57,1
Из них: рецидивов	2	7,4	4	21,1	3	42,9
Пало	-	-	1	25,0	3	75,0

Примечания:

В последующем табличном материале и в тексте работы введены следующие обозначения:

- животные без обструкции уретры (I группа, n = 27);
- животные с частичной обструкцией уретры (II группа, n = 19);
- животные с полной обструкцией уретры и явлениями уроцистита (III группа, n = 7).

У наблюдаемых животных использовались следующие методы исследований:

- общеклинические (сбор анамнестических данных, клиническое обследование с тщательной пальпацией области почек, живота, наружных половых органов, по возможности ректальное исследование доступных участков и зон мочеполовых органов, выявление отклонений в нервной регуляции, связанных с нарушением работы мочевого пузыря и т.п.);

- лабораторный анализ проб свежей мочи по необходимым показателям (рН, наличие белка, кристаллов, уроконкрементов, эритроцитов, лейкоцитов, клеток эпителия, бактерии и т.д.);

- морфологический, био- и цитохимический анализ проб венозной крови, взятых натощак в утренние часы:

а) количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, гематокрит, лейкограмма;

б) состояние клеточных и гуморальных факторов неспецифической резистентности оценивалось по показателям фагоцитоза (ФАН - фагоцитарная активность нейтрофилов, ФИ, ФЧ, ФЕ - фагоцитарный индекс, число и емкость крови);

в) цитохимическая реакция полиморфноядерных нейтрофилов (ПЯН) в НСТ - тесте;

г) определение уровня бактерицидной, лизоцимной и бета- лизинной (БАС, ЛАС, БЛА) сыворотки крови. Вышеперечисленные исследования проводились по общепринятым методам исследований, описанным в различных руководствах (О.В. Смирнова, Т.А. Кузьмина, 1966; В.Г. Дорофейчук, 1968; А.А. Кудрявцев и др., 1969; О.В. Бухарин и др., 1972, 1974; СИ. Плященко, В.Т. Сидоров, 1979; В.В. Меньшиков и др., 1982; В.Г. Колб, Е.С. Камышников, 1982; И.П. Кондрахин и др., 1985; И.А. Пахмутов, 1988);

д) общий белок, кальций фосфор, мочевины, креатинин, билирубин, глюкоза;

е) изучение показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и уровня антиоксидантной защиты (АОЗ) выполнялось в ЦНИЛ ФГУ ВПО «Нижегородской ГМА» с помощью хемилуциметра БХЛ - 06, сопряженного с ПК Intel 486. В образцах липидов плазмы крови (Folch et al., 1973) выявлялись спектофотометрически первичные продукты ПОЛ - диеновые конъюгаты (СФ - 26, 233 нм) и вторичные - триеновые конъюгаты (СФ - 26, 275 нм). Уровень конечных продуктов ПОЛ - оснований Шиффа оценивали спектофлуорометрически (АОС - 1, поглощение и светоиспускание соответственно при длине волны 365 и 420 нм).

Кристаллографические исследования проб мочи проводились методом клиновидной дегидратации по В.Н. Шабалину и С.Н. Шатохиной (1996, 2001) с последующей микроскопией и фоторегистрацией при помощи МФН-3, а также с использованием трихинеллоскопа «Стейк-про».

Таблица 2

Схемы лечения больных животных по группам

Группы	Сроки лечения, дни	Средства лечения, способы их введения и кратность
I	1-3	-но-шпа по 0,3 мл в/м 2раза в день -интрамицин по 0.5 мл 1 раз в день п/к -«Кот-Эрвин» по 2- 4мл 2-3 раза в день, внутрь -диета «Urinary programme»LP-34 (Royal Canin Waltham) 50 - 60 г/сутки -но-шпа по 0,3 мл в/м 2р/день

	4-8	-катозал 10%р-р по 0,5 мл п/к 1 раз в день -«Кот-Эрвин» по 2- 4мл 2-3 раза в день, внутрь -диета «Urinary programme»LP-34 (Royal Canin Waltham) 50 - 60 г/сутки - постоянно
II	1  2-7	-лидокаин 2% й р-р однократно в уретральный канал 1,0 мл -катетеризация мочевого пузыря с ОФР -интрамицин по 0,5 мл 1 раз в день п/к -«Кот-Эрвин» по 2- 4мл 2-3 раза в день, внутрь -катозал 10%р-р по 0,5 мл п/к 1 раз в день -селенопиран и витамин Е масляный р-р 0,3 мл и 25000ЕД п/к, 1 раз -но-шпа по 0,3 мл в/м 2р/день -интрамицин по 0,5 мл 1 /день п/к -«Кот-Эрвин» по 2- 4мл 2-3 раза в день, внутрь -диета «Urinary programme»LP-34 (Royal Canin Waltham) 50 - 60 г/сутки -постоянно
III	1  2-20	-ромпун 2% р-р 0,1 мг/кг массы тела в/м однократно -лидокаин 2% й р-р однократно в уретральный канал 1,0 мл -катетеризация с ОФР или цистоцентез с ОФР -но-шпа по 0,3 мл в/м 2р/день -5%р-р глюкозы 20,0-25,0 мл в/в капельно -0,9% физиологический р-р натрия хлорида до 30,0 мл в/в капельно -катозал 10%р-р по 0,5 мл п/к 1 раз в день -интрамицин по 0,5 мл 1 раз в день п/к -5%р-р глюкозы 20,0-25,0 мл в/в капельно -0,9% физиологический р-р натрия хлорида до 30,0 мл в/в капельно не менее 3-5 раз -селенопиран и витамин Е масляный р-р 0,3 мл и 25000ЕД п/к, 2 раза с интервалом в 14 дней -но-шпа по 0,3 мл в/м 2р/день в течение 7 дней -диста «Urinary programme»LP-34 (Royal Canin Waltham) 50 - 60 г/сутки – постоянно или перевод на «Renal programme» в зависимости от результатов лабораторного анализа проб мочи и крови

Цифровые данные клинико-экспериментальных исследований обработаны методами вариационной статистики с использованием Меритерия Стьюдента на ПК Intel Pentium 4 с использованием стандартного пакета программ Excel 2002.

## 2.2. Основные результаты исследований и их обсуждение.

Как показывают изученные литературные источники, мочекаменная болезнь является одним из основных проявлений нарушения функции нижних отделов мочевыделительной системы. Полиэтиологичность с определенными и достаточно выраженными симптомами (странгурия, дизурия, поллакиурия, гематурия, неконтролируемое мочеиспускание, многократное посещение «своего туалета», разлизывание кончика пениса у кошек и т.п.), выделение мелких уrolитов и песка, наличие уретральных пробок, камней, частичная или полная закупорка уретры. Причем обструкция уретрального канала может возникнуть внезапно или медленно в течение нескольких недель. Клинически

полная закупорка сопровождалась резким угнетением общего состояния, анорексией, коматозными явлениями, гипогидратацией, гипотермией, рвотой на почве расстройства азотистого и других видов обмена веществ. У этих животных отмечалось повышение температуры тела до 39,6 °С, учащение пульса и дыхания, снижение количества эритроцитов, гемоглобина, а в лейкограмме - достоверное возрастание процента юных и палочкоядерных нейтрофилов ( $P < 0,05-0,01$ ).

### **2.2.1 Изменения гуморальных факторов неспецифической резистентности у наблюдаемых котов.**

Гуморальные факторы неспецифической резистентности представлены разнообразными белками и пептидами, содержащимися в крови и других жидкостях тела. Обладая антимикробными свойствами, они способны активировать друг друга, а также стимулировать фагоцитарные клетки. Основным из них является бактерицидная активность сыворотки крови, считающаяся финальным отображением противомикробных процессов, вызванных комплексом гуморальных факторов естественной защиты (комplement, лизоцим, пропердин, бета-лизины, натуральные антитела).

Как видно на рисунках 1, 2, 3, БАС сыворотки крови у животных 2-й и 3-й группы в начале исследований достоверно снижалась в начале только у животных 3-й группы и эта тенденция сохранялась до конца срока исследований (25-30 сутки).

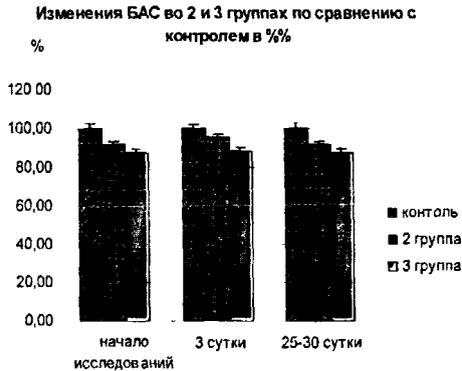


Рис.1. Изменения БАС во 2 и 3 группах по сравнению с контролем.

Изменения ЛАС во 2 и 3 группах по сравнению с контролем в %%

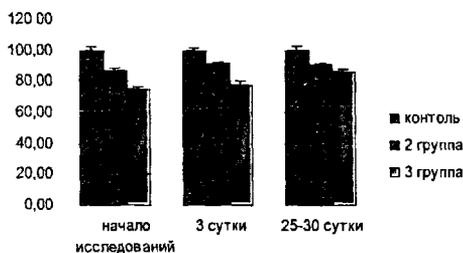


Рис.2. Изменения ЛАС во 2 и 3 группах по сравнению с контролем.

Изменения БЛА во 2 и 3 группах по сравнению с контролем в %%

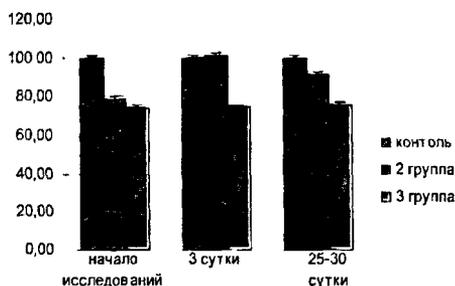


Рис.3. Изменения БЛА во 2 и 3 группах по сравнению с контролем.

Лизоцим (мурамидаза) - фермент чрезвычайно широко распространен в природе и имеет лизосомальное происхождение в клетках животных и человека. Расщепляет гликозидные связи между 1 и 4 углеродными атомами N-ацетилмурамовой кислоты и N - ацетилглюкозамина. В организме животных лизоцим обнаружен в относительно больших количествах в слюне, слезной жидкости, сыворотки крови, различных секретах и т.п.

Лизоцимная активность сыворотки крови подопытных котов достоверно снижалась в начале исследования во 2-й и 3-й группах ( $P < 0,05$ ), на третьи сутки наблюдения уровень лизоцима был низким только в 3-й группе ( $P < 0,02$ ). На завершающем этапе исследований во всех трех группах показатели ЛАС не превышали контрольных величин ( $P > 0,05$ ).

Бета-лизины - это активное, убивающее некоторые бактерии вещество сыворотки крови, которое разрушается при нагревании до  $+ 56^{\circ}\text{C}$  в течение 30 минут. При определении активности энзима по О.В. Бухарину и др. (1972) установлено, что во второй и третьей группах в начале заболевания их противомикробная активность достоверно понижена ( $P < 0,05$ ), тогда как на 3-й сутки лишь у больных котов третьей группы обнаружен довольно низкий

уровень БЛА. Такая же картина у животных этой группы обнаруживалась при исследовании БЛА на 25-30 сутки наблюдения.

### **2.2.2. Показатели фагоцитоза лейкоцитов (нейтрофилов) в периферической крови наблюдаемых котов.**

Фагоцитоз - ключевой фактор в клеточных механизмах неспецифической резистентности, т.к. благодаря ему происходит деструкция патогенных и непатогенных агентов. Ведущую роль в острых и хронических воспалительных процессах играют полиморфоядерные нейтрофилы (ПЯН) и макрофаги (Мф). Первые активно участвуют на начальных этапах воспаления, а вторые - на его более поздних стадиях (В.В. Серов с соавт., 1981, 1983; К.А. Зуфаров с соавт. 1979; А.Н. Маянский, 1984; Т.А. Vertran, 1985; Е.Г. Орлова, С.В. Ширшев, 2004 и др).

Зрелые нейтрофилы в кровяном русле образуют пристеночный (маргинальный) и циркулирующий пулы, находящиеся в динамическом равновесии. После относительно кратковременной циркуляции (-6-7 часов) они мигрируют в ткани через посткапиллярные вены, где выполняют не только специфическую функцию (фагоцитоз), но и осуществляют регуляцию тканевого метаболизма за счет медиации влияний симпатического и парасимпатического отделов автономной (вегетативной) нервной системы, биологически активных веществ (Н.И. Бахов с соавт., 1988; К. Kontula e.a., 1985; Е.Г. Орлова, С.В. Ширшев, 2004).

Обладая рецепторами к Fc-фрагменту иммуноглобулинов и к С3-компоненту системы комплемента ПЯН и Мф играют важную роль не только в антимикробной защите, но и в поддержании динамического постоянства внутренней среды организма (В.Е. Пигаревский, 1982; G. Schltker e.a., 1988 и др.) через кооперацию компонентов плазмы и клеток крови во всех тканях, органах и системах.

Как видно на рис. 4, 5, в начальный период заболевания наиболее существенные сдвиги в фагоцитарной реакции ПЯН установлены во II и III группах: снижались ФАЛ, ФИ, ФЧ, тогда как в I группе они были близки к таковым в контроле ( $p > 0,05$ ). При этом у животных III группы достоверно снижалась по сравнению с контролем ФЕ ( $p < 0,01$ ).

На завершающем этапе исследований (25-30-е сутки) достаточно выраженные расстройства фагоцитоза в ПЯН обнаруживались лишь в III группе, о чем свидетельствовали низкие, по сравнению с остальными группами, все изучаемые показатели ( $p < 0,05-0,01$ ).

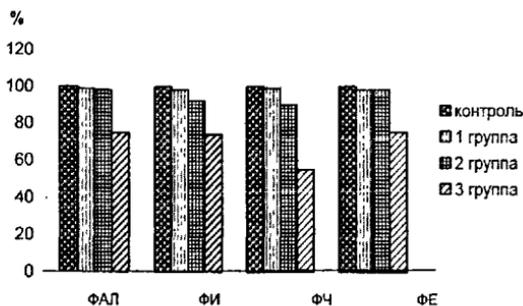


Рис. 4. Показатели фагоцитоза до начала лечения котов, больных МКБ, %.

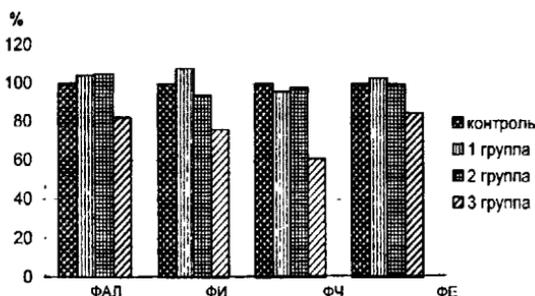


Рис. 5. Показатели фагоцитоза после лечения (25-30 день) котов, больных МКБ, %.

### **2.2.3. Показатели НСТ-теста у наблюдаемых котов до и после лечения.**

За последние три десятилетия утвердились принципиально новые положения о функциях ПЯН (полиморфноядерного нейтрофила) в норме и при различной патологии у человека и животных, т.к. поддерживают динамическое постоянство внутренней среды организма. Подтверждением этому служат многие работы, определяющие центральное место ПЯН в сложной кооперации компонентов плазмы и клеток крови со структурно-функциональными отделами соединительной ткани, включая воспаление и апоптоз, оксидативный стресс, опухолевый рост и т.п. (Д.Ф. Глузман, 1978; В.И. Иванов, 1975; И.А. Пахмутов, 1988; Е.Г. Орлова, С.В. Ширшов, 2004).

У клинически здоровых людей и животных спонтанно восстанавливают нитросиний тетразолий лишь 3-10% ПЯН (СВ НСТ-тест). По сути, это результат функционального раздражения ПЯН *in vivo*, отражающий в значительной мере состояние гомеостаза (А.Н. Маянский, А.Н. Галиуллин, 1984).

Метаболическая активация ПЯН периферической крови *in vitro*, регистрируемая с помощью НСТ-теста, называется активированным, стимулированным или индуцированным вариантом НСТ-теста (АВ НСТ-тест). Он демонстрирует потенциальные (резервные) возможности ПЯН ответить

адекватной «дыхательной вспышкой» на тот или иной стимулятор (бактериальные или др. частицы, эндотоксины, ЛПС и т.п.).

Как видно из материалов таблицы 3, в начальные сроки заболевания во всех трех группах возрастал процент позитивно реагирующих клеток в СВ НСТ-теста, а в АВ, наоборот, понижался. Это подтверждалось такими показателями как ПРН, КМАН, СЦП, СВ и АВ. ( $P < 0,05-0,001$ ).

По окончании лечебного периода (таблица 4) показатели СВ и АВ вариантов НСТ-теста нормализовались в 1-й и 2-й группах, а в третьей группе они сохраняли свои значения близкие к исходным. Аналогичная тенденция была присуща и остальным показателям, что свидетельствовало о существенных сдвигах в кислородзависимом метаболизме исследованных клеток крови у котов с глубокими расстройствами структуры и функции мочевыводящих путей, а также других органов и систем.

Таблица 3

Показатели НСТ - теста у наблюдаемых котов до лечения ( $bl \pm m, n = 7$ ).

№ п/п	Показатели	Группы				P
		Контроль (интактные)	I	II	III	
1	СВ, %	9,3±0,6	10,2±0,5	14,7±0,3	18,5±0,07	к-3<0,01 к-2<0,05 1-3<0,05
2	АВ, %	68,5±1,3	71,3±1,9	63,4±1,2	56,3±1,5	к-3<0,01 к-2<0,05 1-2<0,05
3	ПРН	7,4±0,3	7,1±0,2	4,3±0,3	3,1±0,2	к-3<0,001 к-2<0,01 2-3<0,05
4	КМАН	0,86±0,02	0,84±0,03	0,77±0,03	0,68±0,04	к-3<0,01 3-2>0,05
5	СЦП СВ	0,15±0,03	0,18±0,02	0,31±0,04	0,42±0,05	к-3<0,001 к-2<0,01 1-2<0,05
6	СЦП – АВ	1,84±0,07	1,92±0,05	1,57±0,06	1,34±0,08	к-3<0,01 к-2<0,05

**Примечание к таблице 3:**

НСТ-тест - тест восстановления нитросинего тетразолия;

СВ - спонтанный и АВ - активированные варианты НСТ-теста,

ПРН - показатель резерва нейтрофилов (АВ/СВ);

КМАН - коэффициент метаболической активности нейтрофилов;

СЦП - средний цитохимический показатель в СВ и АВ вариантах НСТ-теста.

Таблица 4

Показатели НСТ - теста у наблюдаемых котов после лечения (25-30 сутки,  $M \pm m, n = 7$ ).

№ п/п	Показатели	Группы				P
		Контроль (интактные)	I	II	III	
1	СВ, %	9,3±0,6	8,4±0,5	9,5±0,3	11,4±0,2	к-3<0,05 1-2<0,05

						2-3<0,05
2	АВ, %	68,5±1,3	69,8±2,4	70,2±1,7	67,6±1,5	к-3<0,01 2-3<0,05
3	ПРН	7,4±0,3	8,3±0,1	7,4±0,2	6,01±0,5	к-3<0,01 1-3<0,01 2-3<0,05
4	КМАН	0,86±0,02	0,88±0,02	0,86±0,03	0,83±0,01	к-3<0,01
5	СЦП – СВ	0,15±0,03	0,12±0,04	0,19±0,02	0,23±0,03	к-3<0,01 1-3<0,01 2-3>0,05
6	СЦП – АВ	1,84±0,07	1,95±0,06	1,65±0,04	1,58±0,06	к-3<0,01 1-3<0,01 2-3>0,05

#### **2.2.4. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у котов при полной обструкции уретры (III группа).**

В настоящее время, по мнению большинства исследователей, принято считать, что ПОЛ является иницирующим и ведущим фактором в патогенезе большинства заболеваний в силу того, что генерация избытка активных форм кислорода (АФК) на фоне дефицита антиоксидантов в первую очередь повреждает клеточные мембраны (Владимиров Ю.А. с соавт., 1977, 1989, 1998; Кармолиев Р.Х., 2002, 2005 и др.). Не вызывает сомнений и то, что при МКБ с полной обструкцией уретры возникают и развиваются нарушения метаболизма, интимные механизмы которых, как нам представляется, обусловлены на первых порах чрезмерным накоплением АФК с одновременным ослаблением антиоксидантных механизмов. Последние, как известно, существуют в виде ферментативных (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и др.) и неферментных соединений (витамины С, Е, ферритины, церулоплазмины). В экспериментальной и клинической фармакологии наряду с классификацией антиоксидантов существуют и другие, в совокупности своей отражающие дополнительный спектр различных веществ с антиокислительными свойствами.

Окислительное повреждение затрагивает почти все компоненты клеток, включая ДНК, белки, липиды. Это явление характеризуется в современной литературе как оксидантный или окислительный стресс. Причиной его развития у различных животных, в т.ч. и у котов, могут быть различные негативные влияния окружающей среды (Р.Х. Кармолиев, 2002, 2005).

В клинических исследованиях проведено определение основных продуктов ПОЛ, а также показателей АОЗ у котов с полной обструкцией уретры на почве МКБ которые приведены в таблице 5.

Из материалов таблицы 5 видно, что у больных котов 3-й группы при поступлении в клинику обнаруживается высокий уровень изучаемых продуктов ПОЛ, который достоверно отличается от контрольных величин ( $P < 0,05-0,01$ ).

Показатели ПОЛ и АОА крови котов с полной обструкцией уретры до и после лечения ( $M \pm m, n=5$ ).

Сроки наблюдения, сут.	Показатели				
	ДК, ед. оп./мг ОЛ	ТК, ед. оп./мг ОЛ	ОШ, отн.ед./мг. ОЛ	I max. mV	Sxl(30')
Исходные данные	0,96±0,04 P<0,001	1,27±0,05 P<0,01	14,84±1,35 P<0,001	9,88±0,76 P<0,01	11,62±0,85 P<0,05
3	0,85±0,02 P<0,05	1,18±0,06 P<0,01	11,32±0,84 P<0,05	8,79±0,42 P<0,05	12,15±0,66 P<0,05
25-30	0,68±0,03 P<0,05	0,87±0,05 P<0,05	8,85±0,33 P<0,05	5,76±0,47 P<0,05	15,44±0,73 P<0,05
Контроль	0,73±0,05	0,94±0,08	9,12±0,45	6,54±0,94	14,71±1,02

Примечание к табл. 5.:

ДК-диеновые конъюгаты, ТК-триеновые конъюгаты, ОШ-основания Шиффа, I-тах- максимальная интенсивность свечения исследуемой крови, отражает ее свободнорадикальную активность; Sxl- светосумма хемилиюминесценции за определенное время, характеризующая антиоксидантную активность образца биообъекта.

P - достоверность различий по сравнению с контролем.

В разгар МКБ при полной обструкции уретры значительно возрастает количество определяемых продуктов ПОЛ. В частности, это касается начала наблюдения и даже на третьи сутки после начала лечения. Так, максимально по сравнению с контролем, возрастает содержание ДК и ОШ в первые сутки. К третьим суткам после начала лечения наиболее выражено понижение уровня ОШ (на 21%). В то же время показатели АОЗ в первые сутки после начала лечения лишь незначительно изменяются.

Таким образом, опираясь на литературные и собственные данные можно заключить, что у котов при МКБ и в первые дни после начала лечения значительно повышен уровень ПОЛ при снижении АОА, что подтверждает наличие избыточной продукции АФК и ослабление естественных механизмов АОЗ.

#### 2.2.5. Биохимический статус у наблюдаемых котов ( $M \pm t$ )

Биохимически у подопытных животных определялись основные показатели белкового, углеводного и минерального обмена, имеющие отношение к патогенезу МКБ. Как видно из таблицы 6, частичная закупорка уретры у котов II группы не сопровождалась существенными изменениями в белковом, фосфорно-кальциевом и углеводном обмене, хотя по содержанию мочевины и креатинина наблюдалась тенденция к их нарастанию, что, как нам представляется, свидетельствовало о функциональных отклонениях в работе почек.

Изменения биохимических показателей у наблюдаемых котов до лечения и на его заключительном этапе ( $M \pm m$ ).

№ п/п	Показатели	Группы				
		II (n = 7)		III (n = 5)		Контроль (клинически здоровые) n = 7
		До лечения	На заключительном этапе	До лечения	На заключительном этапе	
1	Общий белок, г/л	66,4±1,1	67,5±1,3	58,2±1,3	60,7±1,0	64,3±1,5
2	Кальций общий, ммоль/л	2,35±0,06	2,40±0,05	2,62±0,04 <sup>x</sup>	2,43±0,08	2,46±0,05
3	Фосфор, ммоль/л	1,55±0,12	1,39±0,14	1,88±0,15 <sup>x</sup>	1,53±0,08	1,42±0,13
4	Мочевина, ммоль/л	4,53±0,22	4,27±0,10	6,41±0,13 <sup>xx</sup>	5,04±0,15	3,92±0,18
5	Креатинин, ммоль/л	129,5±4,3	125,3±4,5	157,4±3,6 <sup>xx</sup>	139,2±2,5 <sup>xx</sup>	122,4±2,7
6	Глюкоза, ммоль/л	4,32±0,08	4,35±0,09	3,43±0,06 <sup>xx</sup>	3,90±0,05 <sup>xx</sup>	4,46±0,07

Более выраженные изменения изучаемых показателей установлены у котов III группы с полной обструкцией уретры и признаками идиопатического цистита. На фоне достаточно выраженных клинических признаков почечной уремии (угнетение общего состояния, вялость, отказ от корма, периодические приступы рвоты и т.п.) у таких животных обнаруживались довольно характерные биохимические сдвиги: некоторое снижение содержания общего белка, нарастание уровня кальция и фосфора, мочевины и креатинина, но снижение - глюкозы (табл.6.) Подобные изменения с различной степенью проявления обнаруживались многими авторами (Osborn С.А.,1972; Barker J.e.a.,1973; Anderson R.S.,1981; Barsanti J.A.e.a.,1982; Chow F.S.e.a.,1982; Lewis L.D.e.a.,1984; Sqwairs R.A.,2003 и др.)

Таким образом, судя по материалам табл.6., можно заключить, что у котов II группы обнаруживались только признаки легкой формы азотемии, тогда как в III группе преобладали выраженные признаки почечной уремии со специфическими изменениями в морфологическом и биохимическом составе крови.

### **2.2.6. Кристаллографическая (морфологическая) картина фаций мочи у котов, больных мочекаменной болезнью.**

Структуры фаций мочи несут в себе важнейшую диагностическую информацию о состоянии системы мочевыводящих путей. Информация, заложенная во взаимодействующих элементах, определяет структуру фации. Их анализ позволяет судить о наличии, либо отсутствии патологии, а также о глубине и тяжести патологического процесса. (Шаблин В.Н., Шатохина С.Н. 1996, 1999г.).

В результате проведенных кристаллографических исследований фаций мочи (с добавлением 10% раствора альбумина 4:1) клинически здоровых и больных МКБ котов, установлено, что у клинически здоровых животных фация характеризуется аморфной центральной зоной, которая менее выражена, в периферической (белковой) части, имеются радиальные трещины (рис. 6).

У больных МКБ котов (рис.7.) радиальные трещины слабо выраженные, в периферической и центральных частях фации встречаются включения кристаллов мочевых солей (уроконкрементов). Данные изменения свидетельствуют о протекании патологических процессов в организме животного. По нашему мнению, они возникают в результате увеличения содержания токсических продуктов ПОЛ, метаболитов, а также наличия уроконкрементов.

Таким образом, проведенные нами кристаллографические исследования, простота выполнения и доступность которых показали, что эту методику можно использовать как один из дополнительных методов в диагностике МКБ у котов.

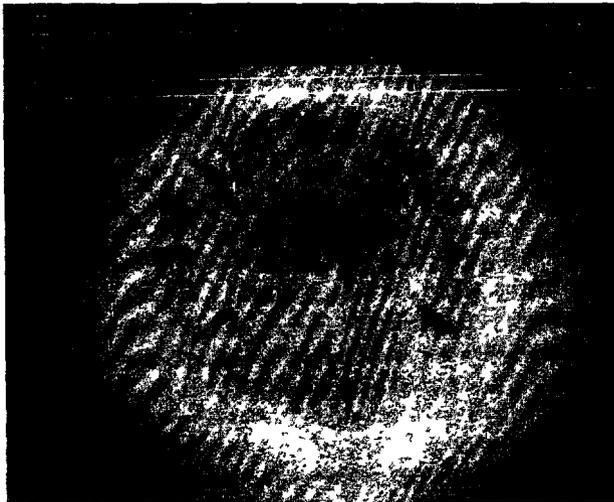


Рис.6. Микрофото фации мочи клинически здорового кота, х 35

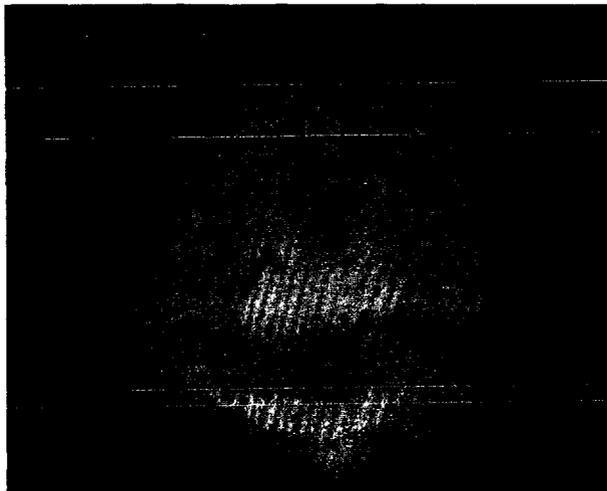


Рис.7. Микрофото фации мочи кота, больного мочекаменной болезнью, x 35

#### ВЫВОДЫ

1. Мочекаменная болезнь у кастрированных и некастрированных котов в условиях мегаполиса г. Н.Новгорода регистрируется в 9,1 % случаев с различной степенью их клинического проявления: 1 - необструктивная форма болезни со скрытым или легким течением, 2 - частичная обструкция уретры с типичной клинической картиной и достаточно тяжелым течением болезни, 3 - полная закупорка уретры с выраженными признаками постренальной недостаточности.

2. У больных котов с легкой формой МКБ (I группа) практически не обнаруживаются существенные клиничко-гематологические и биохимические сдвиги. При этом отсутствуют изменения клеточных и гуморальных факторов неспецифической резистентности организма животных.

3. При частичной обструкции уретры у котов, больных МКБ (II группа), на фоне достаточно выраженной воспалительной реакции в уретре (II группа) клиничко-лабораторными исследованиями регистрируется реактивный лейкоцитоз со сдвигом ядра влево, ослабление клеточных и гуморальных механизмов неспецифической резистентности:

- снижение фагоцитарной активности нейтрофилов, их фагоцитарного индекса, числа и емкости на 9 - 11 % ( $P < 0,05$ );
- изменения НСТ-теста, отражающие сдвиги в кислородзависимой бактерицидности этих клеток крови имели существенные отличия от контроля, так как достоверно повышался процент позитивно реагирующих клеток и их СЦП в СВ НСТ-теста с одновременным снижением этих показателей в активированном варианте, т.е. имело место повышенной функциональной

раздражимости и снижение способности к активному фагоцитозу при наличии воспалительных изменений в уретральном канале;

показатели бактерицидной, лизоцимной и бетализинной активности достоверно снижались в начале заболевания, оставаясь на этом уровне на третьи сутки и нормализуясь по завершении периода лечения (20 - 25 сутки).

4. У наблюдаемых котов при полной закупорке уретры (III группа) изученные показатели неспецифической резистентности отражали глубину и тяжесть патологического процесса:

подавлялись показатели фагоцитоза - ФАН, ФИ, ФЧ, ФЕ снижаясь на 18-20% по сравнению с контролем ( $P < 0,01$ );

СВ-НСТ - тест возрастал до  $18,5 \pm 0,7$ , а АВ, наоборот - снижался до  $56,3 \pm 1,5\%$ , что свидетельствует, с одной стороны, о функциональном раздражении нейтрофилов, а с другой - о падении кислородзависимой цитотоксичности ПЯН и их готовности к фагоцитарному ответу.

ослабевали защитные свойства сыворотки крови, что подтверждается снижением уровня БАС, ЛАС и БЛА в среднем на 20 - 22 % ( $P < 0,05-0,01$ ).

5. При частичной закупорке уретры у котов при МКБ биохимически устанавливаются признаки наличия легкой формы азотемии, а при полной обструкции - постренальной уремии.

6. Кристаллографическая картина образцов свежей мочи котов при МКБ может использоваться в качестве дополнительного диагностического теста.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.**

Полученные клинико-экспериментальные данные рекомендуются к использованию в учебном процессе на факультетах ветеринарной медицины при изучении дисциплин патофизиология, фармакология, клиническая диагностика животных, при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий, при написании учебников и учебных пособий, монографий.

Сведения о кристаллооптической картине образцов мочи у котов в норме и при МКБ могут быть использованы в качестве предварительного экспресс-метода при дифференциальной диагностике заболеваний мочеполовой системы.

Результаты исследований могут быть использованы в практической работе ветеринарных специалистов при лечении котов, больных мочекаменной болезнью.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Барышев Д. Ю. К вопросу лечения и профилактики некоторых форм почечной патологии у кошек / Д. Ю. Барышев, И. А. Пахмутов // Материалы X Московского Международного ветеринарного конгресса, М., 2002.-С. 292-293.
2. Послов Г.А. Озон и антиоксидантные средства в комплексном лечении мочекаменной болезни у кошек / Послов Г.А., Барышев Д.Ю., Пахмутов И.А. // Материалы XII Московского Международного конгресса (Москва 22-24 апреля 2004 г.), М., 2004.-С.63-64.
3. Барышев Д.Ю. Параимунные и кристаллографические исследования крови и мочи у кошек при мочекаменной болезни

(МКБ)/Д.Ю.Барышев,И.А.Пахмутов,А.А.Орлов//Материалы XIII Международного Московского конгресса по болезням мелких домашних животных (Москва 23-25 апреля 2005 г.),М.,2005.-С 139.

Перечень условных сокращений:

АЗ-НСТ- активированный (индуцированный) вариант НСТ-теста

АлТ — аланинаминотрансфераза

Ам - амилаза

АОА - антиоксидантная активность

АОЗ - антиоксидантная защита

АОС - антиоксидантная система

АсТ - аспаратаминотрансфераза

АФК - активные формы кислорода

БАС - бактерицидная активность сыворотки крови

БЛА - бета-лизинная активность сыворотки крови

ГГТ - гамма-глутамил трансфераза

ДК - диеновые конъюгаты

ДЦК -дифференциальный цитохимический коэффициент

ЗНОМП - заболевания нижних отделов мочевыводящих путей

КМАН - коэффициент метаболической активности нейтрофилов

КФК - креатинфосфокиназа

ЛАС - лизоцимная активность сыворотки крови

МКБ - мочекаменная болезнь

НСТ-тест - тест восстановления нитросинего тетразолия

ОПН - острая почечная недостаточность

ОШ - основания Шиффа

ПОЛ - перекисное окисление липидов

ПРИ - показатель резерва нейтрофилов

ПЯН - полиморфноядерный нейтрофил

СВ-НСТ - спонтанный вариант НСТ-теста

СРО - свободнорадикальное окисление

СЦК - средний цитохимический коэффициент

ТК - триеновые конъюгаты

ФАЛ - фагоцитарная активность лейкоцитов

ФЕ - фагоцитарная емкость

ФИ - фагоцитарный индекс

ФЧ - фагоцитарное число

ХЛ - хемилюминисценция

ЩФ - щелочная фосфатаза

Подписано в печать 16.05.05. Формат 60x84<sub>1/16</sub>  
Бумага писчая. Печать офсетная.  
Усл печ.л.1. Тираж 100 экз. Заказ ~~167~~

Типография Нижегородской Государственной  
Сельскохозяйственной Академии  
603107, Г.Н.Новгород, пр.Гагарина, 97





15 ИЮН 2005



209