

На правах рукописи



ТУХФАТОВА РЕГИНА ФАНОВНА

**ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
НОВОЙ КОМПОЗИЦИИ ПОЛИЗОН+ТИАМИНА БРОМИД
И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ГАСТРОЭНТЕРИТАХ 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 ветеринарных наук, профессор
Новиков Валерий Александрович;
доктор биологических наук, профессор
Фролов Виктор Петрович

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Оренбургский
государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «26» сентября 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. Свиноводство – наиболее рентабельная отрасль животноводства, и при правильной организации быстро окупает затраты и дает большие доходы. В связи с переходом на рыночные отношения свиноводство оказалось в тяжелом финансовом положении.

На свинокомплексах Республики Башкортостан за последние годы наблюдается большое сокращение поголовья, что приводит к снижению производства свинины. Поэтому перед работниками сельского хозяйства ставится задача довести в 2006 году до 60 тыс. тонн производство свинины и восстановить поголовье свиней до 900 тыс. ед. в общественном секторе.

Несмотря на значительное количество работ, посвященных изучению болезней желудочно-кишечного тракта, вопросы патогенетического лечения остаются в центре внимания ученых и практических ветеринарных специалистов и являются актуальной проблемой (Папуниди К.Х., Иванов А.В., Зухрабов М.Г., 2001; Софронов В.Г., 2001; Госманов Р.Г., 2001; Тремасов М.Я. с соавт., 2001).

Из всех болезней сельскохозяйственных животных 90 % составляют незаразные заболевания, которые вызываются, главным образом, условно патогенной микрофлорой. Наибольший удельный вес из них занимают болезни органов пищеварения и органов дыхания (Шахов А.Г., Бузлама В.С., 1990; Рахматуллин Э.К. с соавт., 2000; Папуниди К.Х. с соавт., 2002; Дроздова Л.И. с соавт., 2003; Герунов В.И., Герунова Л.К. с соавт., 2003; Самородова И.М., Рабинович М.И., 2004).

В последние годы интенсивно расширяется выпуск биологически активных препаратов различной направленности для лечения патологических процессов, а также средств, применяемых для повышения продуктивности животных (Ноздрин Г.А., 1996; Жаров А.В., 2003; Дорожкин В.И. с соавт., 2003; Донник И.М., Шкуратова И.А., 2003; Александров И.Д., Антипов В.А. с соавт., 2004).

Целенаправленный синтез и получение новой лекарственной композиции с необходимыми фармакологическими и биологическими свойствами являются одним из методов познания общих и частных закономерностей болезни. Прогресс фармакологии характеризуется поиском и созданием новых безопасных лекарственных препаратов.

В связи с вышеизложенным в ООО «Поливит» под руководством доктора технических наук Струнина Б.П. проведен синтез фосфорнокислой соли 2-амино-4-метилтио-(S-оксо-S-имино)-масляной кислоты, зарегистрированной 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 2002 г.

(протокол № 2). Тиамин бромид применяют с профилактической и лечебной целью при нервно-токсической форме диспепсии у поросят-сосунов, диспепсии телят, гастритах и энтеритах с явлениями атонии. На основе Полизона и витамина В₁ получена композиция Полизон+Тиамин бромид, сочетающая несколько видов фармакологической активности.

1.2. Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение токсико-фармакологических свойств новой композиции Полизон+Тиамин бромид и ее применение при гастроэнтеритах поросят.

Для реализации поставленной цели нами были определены следующие задачи:

1. определить острую токсичность композиции для белых мышей и крыс;
2. изучить иммунологические показатели (влияние на титр агглютининов, пролиферативную и миграционную активность полипотентных стволовых кроветворных клеток) лабораторных животных;
3. изучить влияние на аминокислотный состав крови больных гастроэнтеритом поросят;
4. изучить влияние на биохимические показатели крови больных гастроэнтеритом поросят;
5. изучить влияние на секреторную активность желудочно-кишечного тракта больных гастроэнтеритом поросят;
6. изучить влияние на прирост живой массы поросят;
7. провести гистологические исследования желудка и тонкого отдела кишечника больных гастроэнтеритом поросят.

1.3. Научная новизна. Впервые установлены отдельные механизмы иммуотропного действия композиции Полизон+Тиамин бромид на лабораторных животных и поросятах. Определено влияние на аминокислотный состав и биохимические показатели крови, на секреторную активность желудочно-кишечного тракта больных гастроэнтеритом поросят. Впервые проведены гистологические исследования желудка и тонкого отдела кишечника больных гастроэнтеритом поросят.

1.4. Теоретическая и практическая значимость. Результаты выполненных исследований позволили предложить композицию Полизон+Тиамин бромид как конкурентоспособный препарат для повышения резистентности организма и лечения гастроэнтеритов поросят. По результатам исследований оформлена заявка на патент № 2005137089/13(041395) от 06.02.2006 (Препарат для повышения продуктивности и резистентности животных). Получено наставление от 26 июня 2002 г. Департамента ветеринарии, сертификата соответствия № РОСС RU. ПО96. В 10347.

1.5. Основные положения, выносимые на защиту:

- фармакологический спектр и механизм иммуномодулирующего действия композиции Полизон+Тиамин бромид;
- степень безвредности композиции Полизон+Тиамин бромид;

- обоснование использования композиции Полизон+Тиамин бромид для повышения резистентности и лечения гастроэнтеритов поросят.

1.6. Апробация 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);
 - конференции «Перспективные направления научных исследований молодых ученых и студентов Урала и Сибири» (Троицк, 2005);
 - Всероссийской научно-практической конференции «Перспективы агропромышленного производства регионов России в условиях реализации приоритетного национального проекта «Развитие АПК»» (Уфа, 2006);
 - 17-й международной научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2006);
- а также опубликованы в рецензируемых журналах:
- Экологические системы и приборы, 2005, № 9. – С. 57-58
 - Свиноводство, 2006, № 5. – С. 23-24

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 11 печатных работ.

1.8. Внедрение результатов исследований: опытно-производственные испытания проведены в СПК колхоза «Октябрь» Кугарчинского района, 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, включающего 155 источников, из них 115 отечественных и 40 зарубежных авторов, и приложения. Работа изложена на 120 страницах машинописного текста, содержит 13 таблиц и 17 рисунков.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Экспериментальные лабораторные исследования проведены на кафедре «Внутренние незаразные болезни, клиническая диагностика и фармакология» ФГОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет» на 210 белых беспородных мышах с живой массой 18-20 г, на 180 белых беспородных крысах с массой 120-200 г, на 35 кроликах с массой 2 кг, а также в условиях производства: СПК колхоза «Октябрь» Кугарчинского района, ИП «Ханафина Ф.З.» Уфимского района Республики Башкортостан на 120 поросятах крупной белой породы в возрасте 3-6 месяцев.

Лабораторные животные содержались в одинаковых зоогигиенических условиях вивария. Кормление животных проводили согласно суточной потребности (Ковалевский К.Л., 1968).

Изучение острой токсичности композиции Полизон+Тиамин бромид проводили по общепринятой методике (Саноцкий И.В., 1970; Елизарова О.Н., 1971).

Противоязвенную активность определяли на моделях язв, вызванных индометацином и ацетилсалициловой кислотой, путём двукратного введения в желудок крысам через зонд с учётом трехкратных эффективных доз (Аничков С.В., Заводская И.С., 1965).

Реакцию агглютинации и титр агглютининов ставили по общепринятой методике с живой культурой протей O_{x2} (Земсков А.М., 1982; Trill J.E., Mc Culloch R.A., 1963).

Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на пролиферативную и миграционную активность полипотентных стволовых кроветворных клеток и на образование эндогенных колоний в селезенке мышей изучалось при лечебном и профилактическом введении (Хантов Р.М., Арипова Т.У., 1982).

Содержание аминокислот в сыворотке крови свиней определяли на аминокислотном анализаторе LC 3000 фирмы «Eppendorf-Biotonic» (Германия).

Определение бактерицидной активности сыворотки крови проводили согласно методике, основанной на учете изменений оптической плотности среды, содержащей микробную взвесь и сыворотку крови (по Мишелю и Треферс, 1956, в модификации Храбустовского И.Ф., Маркова Ю.М. и др., 1974).

Определение фагоцитарной активности нейтрофилов проводили по методу Бермана В.М., Славской Е.М. (1958), основанном на учете числа бактерий, захваченных нейтрофилами в процессе их совместного инкубирования в термостате.

Кислотность желудочного содержимого исследовали классическим методом Тепфера с использованием индикаторов, обладающих свойствами изменять окраску в определенной зоне pH среды (Кондрахин И.П., Курилов Н.В., Малахов А.Г. и др., 1985).

Определение переваривающей силы желудочного сока проводили по методу Метта (Беляков И.М., 1975).

Биохимические исследования сыворотки крови поросят проводили согласно общепринятым методикам (Кондрахин И.П., 1985).

Для гистологического исследования кусочки тканей фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалине, после обезвоживания в серии спиртов возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. 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 Стьюденту (Стрелков Р.Б., 1996).

2.2. Результаты собственных исследований

2.2.1. Изучение острой токсичности композиции Полизон+Тиамин бромид

Параметры острой токсичности композиции Полизон+Тиамин бромид (таблица 1) определяли на белых беспородных мышах с живой массой 18 – 20 г и белых крысах с массой 180 – 190 г при пероральном введении. Исследуемую композицию вводили в различных дозах – от 800 до 2600 мг/кг.

Таблица 1 - Параметры острой токсичности композиции Полизон+Тиамин бромид и Полизона

Препарат	Вид животного	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄	Коэффициент вариальности смертельных доз (K)
Полизон+Тиамин бромид	Мыши	1050	1615,01±101,15	2220	2,11
	Крысы	1500	2050,63±180,69	2350	1,57
Полизон	Мыши	760	1070,00±89,40	1440	1,89
	Крысы	1130	1454,17±79,32	1760	1,56

При введении композиции Полизон+Тиамин бромид в дозах 800 – 1000 мг/кг у мышей отмечалось незначительное угнетение, мыши забивались в угол, переставали двигаться, как бы «застывали» на месте. Через 2-3 часа после введения композиции животные приходили в нормальное состояние.

При введении композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе

1600 – 2600 мг/кг признаки отравления проявлялись через 15-25 минут в виде подёргиваний лапок, запрокидывания головы, в последующем животные совершали плавательные движения на животе, отмечались серозные выделения из носовой и ротовой полостей. Смерть наступала через 60-70 минут после введения препарата в токсической дозе. При введении композиции Полизон+Тиамин бромид в среднетоксических дозах у опытных животных отмечалось угнетение с понижением двигательной активности, у выживших мышей и крыс аналогичные симптомы отравления исчезали через 3-5 часов.

При повторном введении химических веществ в организм животных может наступить усиление токсического действия. В связи с этим нами изучены кумулятивные свойства композиции Полизон+Тиамин бромид. Кумулятивные свойства композиции Полизон+Тиамин бромид изучены на белых мышах-самцах массой 18-20 г при пероральном введении. В течение 10 дней животные получали суммарную дозу исследуемой композиции. Методом интегрирования по Беренсу определены токсические параметры композиции Полизон+Тиамин бромид при подостром опыте. Коэффициент кумуляции $K = 2$.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами установлено, что композиция Полизон+Тиамин бромид относится, согласно ГОСТ 12.1.00.7-76, к III классу опасности.

2.2.2. Противоязвенная активность композиции Полизон+Тиамин бромид

Причинами возникновения язвенной болезни являются нарушение равновесия между агрессивными факторами для слизистой оболочки, такими как применение нестероидных противовоспалительных препаратов, инфицирование пилорическим гелиобактером, протективные факторы, секреция пепсина.

Противоязвенная активность Полизона, введенного животным в дозе 1 мг/кг, составляла 2,62; в дозе 2 мг/кг - 4,0; в дозе 3 мг/кг - 4,42; в дозе 5 мг/кг - 4,66, а противоязвенная активность композиции Полизон+Тиамин бромид - 5,12 при использовании в качестве ulcerогенного вещества раствора ацетилсалициловой кислоты. При применении в качестве ulcerогена индометацина получены следующие результаты: при введении Полизона в дозе 1 мг/кг противоязвенная активность составляла 1,14; в дозе 2 мг/кг - 1,60; в дозе 3 мг/кг - 1,64 и в дозе 5 мг/кг - 2,48, а при использовании композиции Полизон+Тиамин бромид - 2,78. Препарат считается эффективным, если его противоязвенная активность > 2 .

2.2.3. Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на массу внутренних органов крыс

Опыты по изучению влияния композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе 2+2 мг/кг на массу органов желудочно-кишечного тракта (желудок, печень,

поджелудочная железа) и общую массу тела животных проводили на беспородных белых крысах с живой массой 120-130 г. Использовали 16 животных, из которых были сформированы 2 группы: опытная и контрольная. Препарат вводили один раз в сутки в дозе 2+2 мг/кг внутрижелудочно с помощью зонда в течение 10 дней. По истечении 10 суток животных декапитировали и взвешивали внутренние органы.

У подопытных крыс под влиянием исследуемой композиции наблюдается увеличение общей массы тела животного (на 15,4 г по сравнению с контрольными животными) и массы внутренних органов: масса желудка в опытной группе больше чем в контроле на 0,308 г; печени - на 1,534 г; поджелудочной железы - на 0,099 г.

Таким образом, композиция Полизон+Тиамин бромид в дозе 2+2 мг/кг, задаваемая в течение 10 дней, оказывает стимулирующее влияние на развитие всего организма и органов желудочно-кишечного тракта: желудка, печени и поджелудочной железы.

2.2.4. Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на титр агглютининов кроликов

До вакцинации титры агглютининов в группах кроликов, получавших гидрокортизон, были самые низкие. У животных, получавших Полизон+Тиамин бромид+гидрокортизон, титры агглютининов были значительно выше ($P < 0,05$).

Полизон+гидрокортизон и Полизон+Тиамин бромид+гидрокортизон повышают у кроликов титр естественных агглютининов к кишечной палочке. Самые высокие титры агглютининов отмечены на 9 день после вакцинации.

В этих же условиях Полизон и Полизон+Тиамин бромид повышают бактерицидные и протективные свойства сыворотки кроликов.

В результате проведенных исследований установлено, что применение композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг на фоне гидрокортизона более эффективно, чем Полизона в дозе 5 мг/кг+гидрокортизон. Исследуемая композиция стимулирует выработку агглютининов и повышает протективные свойства сыворотки крови кроликов.

2.2.5. Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на пролиферативную и миграционную активность полипотентных стволовых кроветворных клеток

Известно, что большинство полипотентных стволовых кроветворных клеток костного мозга мышей постоянно мигрирует в другие кроветворные и лимфоидные органы и ткани, выполняя тем самым пул коммитированных предшественников всех ростков гемо- и лимфопоэза, обладающих

ограниченной способностью к самоподдержанию (Петров Р.В., Манко В.М., 1971; Trill J.E., Mc Culloch R.A., 1963).

Колониеобразующая реакция стволовых гемопоэтических клеток может быть количественно определена подсчетом числа потомков в тесте с эндогенным колониеобразованием (Козлов В.А. с соавторами, 1968, 1978, 1980).

В результате исследований нами было установлено, что Полизон и композиция Полизон+Тиамин бромид как при профилактическом, так и при лечебном введении внутрь усиливают миграционную активность стволовых кроветворных клеток.

Так как многие средства обладают выраженным митотоксическим действием, которое приводит к поражению кроветворных и других быстро пролиферирующих тканей, существенным в системе комплексной оценки специфической фармакологической активности препаратов является определение их избирательной активности по отношению к клеткам лимфоидной ткани. Для этой цели используется экспериментальная модель, позволяющая одновременно определять митотоксическое и лимфотоксическое действие исследуемых соединений.

Применение Полизона в дозах 4, 5, 6 мг/кг и композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг не оказывало митотоксического действия (не влияло на размножение эндогенных стволовых клеток).

Композиция Полизон+Тиамин бромид отменяла ингибицию КОЕ аллогенными лимфоцитами за счет лимфотоксического эффекта, который не превышал 30 % и с увеличением дозы препарата не возрастал.

Это указывает на влияние композиции на функциональную активность Т-клеток – эффекторов и отсутствие цитотоксического эффекта на клетку.

2.2.6. Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на клеточные факторы защиты организма больных гастроэнтеритом поросят

Огромная роль принадлежит иммунной защите, которая обеспечивает адаптацию организма к постоянно меняющимся факторам внешней и внутренней среды, в результате чего сохраняется гомеостаз, который необходим для поддержания нормальной жизнедеятельности организма и его резистентности.

Учитывая вышеизложенное, нами изучены клеточные факторы защиты организма поросят.

Материалом для работы послужили 40 больных гастроэнтеритом поросят, подобранных по принципу аналогов, в возрасте 3 месяцев, которых разбили на 4 группы по 10 животных в каждой, получавших:

- I группа – Полизон в дозе 5 мг/кг;
- II группа – композицию Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг;
- III группа – Тиамин бромид в дозе 4 мг/кг;

-IV группа – контрольные животные.

Поросят опытных групп вводили исследуемые соединения в течение 10 дней. Поросят IV группы лечили согласно схеме, практикуемой в хозяйстве: полуголодная щадящая диета, вяжущие средства (бесалол), в качестве антимикробного средства применяли фталазол, витаминизацию проводили тривитаминном, при нарастании симптомов сердечно-сосудистой недостаточности, интоксикации и обезвоживания внутривенно вводили глюкозу с кофеином.

У больных гастроэнтеритом поросят наблюдалось угнетение, снижение аппетита, рвота, профузный понос. Каловые массы содержали непереваренные частицы корма с примесью слизи. Температура тела была повышена до $41,0 - 41,5^{\circ}\text{C}$, тахикардия (частота сердечных сокращений $120 - 135$ ударов в минуту). При пальпации области желудка и кишечника у поросят заметно выражена болевая реакция.

Фагоцитарная активность лейкоцитов в I группе животных составила $24,60 \pm 0,77\%$, во II группе – $26,70 \pm 0,99\%$, в III группе – $20,30 \pm 0,67\%$, в IV – $19,40 \pm 0,59\%$. Фагоцитарная активность лейкоцитов у животных II группы была на $37,6$, а в I группе – на $26,8\%$ выше по сравнению с животными IV группы.

Фагоцитарный индекс у поросят I группы больше на $46,7$, у поросят II группы на $66,7\%$ больше по сравнению с данными IV группы.

Фагоцитарное число в III и IV группах находится приблизительно на одинаковом уровне ($1,12 \pm 0,09$ и $1,10 \pm 0,11$ микробных тел), во II группе животных – $2,09 \pm 0,21$ микробных тел, в I группе – $1,95 \pm 0,15$ микробных тел.

Бактерицидная активность крови поросят во II группе выше на $36,8\%$, в I группе – на $26,7\%$ по сравнению с контролем.

Показатели клеточных факторов естественной резистентности находятся на высоком уровне в крови животных I и II групп. Особенности организма поросят требуют повышенной активности лейкоцитов для того, чтобы более активно реагировать на воздействие вредных факторов внешней среды.

2.2.7. Влияние композиции Полизон+Тиамина бромид на аминокислотный состав крови и прирост живой массы поросят

Известно, что протеиновая питательность кормов определяется количеством протеина. Свободные аминокислоты, в отличие от жиров, углеводов, минеральных веществ и витаминов, в организме не депонируются, приток их должен быть постоянным и ритмичным. При недостатке в рационе даже одной незаменимой аминокислоты животное восполняет его за счет поедания большего количества корма, затраты которого в этом случае на получение единицы продукции увеличиваются, и, более того, ухудшается использование всех питательных веществ рациона.

Свободные аминокислоты крови и плазмы могут служить показателем белкового питания. При несбалансированном белковом и аминокислотном кормлении животных, в частности при недостатке в нем лизина и метионина либо при нарушении их усвояемости из корма, отмечается понижение содержания аминокислот в плазме крови и, соответственно, уменьшается их использование в качестве строительного материала для тканей организма животных.

Результаты исследований отражены в таблице 2.

Таблица 2 - Влияние композиции Полизон+Тиамин бромидна аминокислотный состав крови поросят

Аминокислоты	1 группа (контроль)	2 группа (Полизон+Тиамин бромид 5+4 мг/кг)		3 группа (Полизон 5 мг/кг)	
	мг%	мг%	по отношению контролю, %	мг%	по отношению контролю, %
Лизин	1,44 ± 0,09	1,91 ± 0,11	132,64	1,79 ± 0,15	124,31
Метионин	0,19 ± 0,01	0,51 ± 0,04	268,42	0,45 ± 0,03	236,84
Лейцин	1,59 ± 0,11	1,78 ± 0,09	111,95	1,66 ± 0,12	104,40
Изолейцин	1,71 ± 0,12	1,72 ± 0,13	101,18	1,71 ± 0,09	100,00
Валин	3,45 ± 0,18	3,88 ± 0,21	112,46	3,59 ± 0,19	104,06
Треонин	0,72 ± 0,06	0,96 ± 0,07	133,33	0,85 ± 0,07	118,06
Гистидин	1,13 ± 0,09	1,86 ± 0,12	164,61	1,58 ± 0,13	139,82
Аргинин	1,19 ± 0,08	1,31 ± 0,11	110,08	1,25 ± 0,11	105,04
Фенилаланин	1,17 ± 0,07	1,66 ± 0,13	141,88	1,55 ± 0,08	132,48
Незаменимые аминокислоты всего	12,59 ± 0,81	15,59 ± 1,01	123,83	14,43 ± 0,97	114,61
Общий белок, г%	6,61 ± 0,57	7,21 ± 0,60	109,07	7,01 ± 1,01	106,05

При введении в рацион поросят Полизона в дозе 5 мг/кг и композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг и на фоне общего увеличения белка в сыворотке крови отмечается и увеличение незаменимых аминокислот. Наиболее ярко выражено увеличение лимитирующих аминокислот, таких как метионин (на 136,84 % при введении Полизона и на 168,42 % при введении композиции) и лизин (соответственно на 24,31 % и 32,64 %). Кроме того, значительно увеличивается количество гистидина (на 39,82 % и 64,61 %), фенилаланина (32,48 % и 41,88 %) по сравнению с контролем.

Таким образом, установлено, что композиция Полизон+Тиамин бромид способствует более значительному возрастанию количества аминокислот в сыворотке крови по сравнению с Полизоном, что положительно сказывается на темпах роста поросят.

Анализируя результаты, нами отмечено, что наиболее высокие показатели

среднесуточного, относительного и абсолютного прироста живой массы наблюдаются у поросят, получавших композицию Полизон+Тиамина бромид.

Так, в I группе среднесуточный прирост составил $690,00 \pm 3,01$ г, во II группе – $786,00 \pm 4,07$ г, в III группе – $609,00 \pm 2,04$ г, а в контрольной – $543,00 \pm 3,11$ г. Масса поросят после опыта в I группе составила $44,20 \pm 4,12$ кг, во II – $45,60 \pm 4,33$ кг, в III – $40,30 \pm 3,94$ кг, в контрольной – всего $30,70 \pm 3,75$ кг. Следует отметить, что в контрольной группе 3 поросенка пали. При применении композиции Полизон+Тиамина бромид рецидивы заболевания нами не зарегистрированы, что свидетельствует о коррекции иммунного статуса и положительном влиянии на гематологические и биохимические показатели крови больных поросят.

2.2.8. Влияние композиции Полизон+Тиамина бромид на биохимические показатели крови больных гастроэнтеритом поросят

В доступной ветеринарной литературе имеются работы, посвященные определению трансаминаз, холестерина и других биохимических показателей функции печени, но почти нет данных об изменениях этих показателей у больных поросят при гастроэнтерите.

В связи с изложенным выше нами была изучена динамика активности трансаминаз (аспартатаминотрансферазы – АСТ, аланинаминотрансферазы – АЛТ), холестерина, билирубина, общего белка и некоторых других биохимических показателей.

При острой форме гастроэнтерита исследуемые показатели резко изменяются: снижаются содержание общего белка (на 30,67 % по сравнению со здоровыми животными), гликопротеидов (на 31,08 %), сахара (на 51,67 %), пировиноградной кислоты (на 62,50 %), уровень общих липидов (на 47,99 %), холестерина (на 35,47 %). Во время болезни наблюдается билирубинемия. Количество общего билирубина по сравнению со здоровыми поросятами увеличивается с 2,74 до 13,68 мкмоль/л. Резко повышается содержание в крови АЛТ (до 1,24 мкмоль), АСТ (до 1,39 мкмоль), ЛДГ (до 850,0 ед. акт.), альдолазы (до 21,06 ед.), щелочной фосфатазы (до 18,43 мг%).

После проведенного лечения мы наблюдали следующие изменения (таблица 3).

Из данных таблицы 3 видно, что на 10 день лечения у поросят II группы произошло восстановление биохимических показателей сыворотки крови до нормативного уровня. Так, количество белка увеличилось с $55,89 \pm 4,33$ до $82,25 \pm 5,74$ г/л, что на 47,16 % больше по сравнению с исходными данными; также увеличилось содержание гликопротеидов (на 44,37 %), сахара (на 102,96 %), пировиноградной кислоты (на 171,11 %), общих липидов (на 87,32 %), холестерина (на 59,60 %). Высокие показатели общего белка, сахара, пировиноградной кислоты, липидов и холестерина можно объяснить усиленным белковым, углеводным, липоидным обменом в печени.

Таблица 3 - Биохимические показатели сыворотки крови у больных гастроэнтеритом поросят на 10 день лечения

№ группы	Общий белок, г/л	Глюкоза, ммоль/л	Сахар, ммоль/л	Прямая реакция Кет, ммоль/л	Общие липиды, г/л	Холестерин, ммоль/л	Билирубин общий, ммоль/л	АЛТ, ммоль/л	АСТ, ммоль/л	ЛДГ, ед. акт.	Альдолаза ед.	ЩФ, мг%
I	70,31 ±6,33	501,11 ±32,01	3,71 ±0,27	123,82 ±12,08	3,71 ±0,04	1,80 ±0,17	4,28 ±0,42	0,67 ±0,05	1,09 ±0,09	401,37 ±33,58	8,52 ±0,75	8,81 ±0,07
II	82,25 ±5,74	543,62 ±29,65	4,12 ±0,32	138,59 ±11,09	3,89 ±0,35	2,41 ±0,22	3,08 ±0,22	0,49 ±0,03	0,65 ±0,05	351,08 ±29,36	6,01 ±0,55	8,05 ±0,05
III	66,05 ±3,53	478,81 ±38,06	2,75 ±0,26	93,15 ±9,07	3,30 ±0,29	1,68 ±0,15	10,09 ±0,94	0,81 ±0,07	1,22 ±0,11	575,45 ±45,72	11,32 ±0,94	9,74 ±0,08
IV	60,88 ±5,27	422,09 ±22,36	2,19 ±0,20	67,02 ±5,05	2,99 ±0,28	1,58 ±0,12	12,14 ±1,08	0,97 ±0,07	1,29 ±0,21	705,84 ±66,57	15,36 ±1,39	12,08 ±0,09

Также нормализовалось содержание общего билирубина и ферментов, что указывает на восстановление соотношения процессов синтеза и элиминации ферментов в клетках и холестеринобразовательной функции печени. Количество общего билирубина снизилось с $13,68 \pm 1,05$ до $3,08 \pm 0,22$ мкмоль/л, АЛТ – с $1,24 \pm 0,11$ до $0,49 \pm 0,03$ мкмоль, АСТ – с $1,39 \pm 0,09$ до $0,65 \pm 0,05$ мкмоль, ЛДГ – с $850,0 \pm 43,12$ до $351,08 \pm 29,36$ ед. акт., альдолазы – с $21,06 \pm 3,60$ до $6,01 \pm 0,55$ ед., ЩФ – с $18,43 \pm 0,66$ до $8,05 \pm 0,05$ мг%.

У животных I и III групп нормализация биохимических показателей происходила менее интенсивно по сравнению с животными II группы, что говорит о более медленном восстановлении функций печени и угнетении метаболизма углеводов, липидов и протеинов.

Таким образом, нами установлено, что под влиянием композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг происходит улучшение биохимических показателей крови за счет восстановления функции печени и активизации белкового, липидного, углеводного обменов.

2.2.9. Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на секреторную активность желудочно-кишечного тракта больных гастроэнтеритом поросят

В патогенезе нарушения работы желудочно-кишечного тракта проявляется сумма факторов, между которыми возникают причинно-следственные отношения: повышение общей кислотности желудочного содержимого, снижение количества связанной и свободной соляной кислоты; ферментопатий, проявляющихся снижением переваривающей способности; интоксикация организма; нарушение обмена веществ; дистрофия органов и тканей.

Таблица 4 - Функциональное состояние органов пищеварения поросят, больных гастроэнтеритом

№ группы	Желудочное содержимое			
	общая кислотность (титр. ед.)	свободная соляная кислота (титр. ед.)	связанная соляная кислота (титр. ед.)	переваривающая сила (мм)
Исходные данные				
	77,40 ± 7,37	8,50 ± 0,12	7,80 ± 0,18	0,70 ± 0,02
5 день				
I	61,80 ± 4,84	10,70 ± 0,48	10,10 ± 1,01	0,90 ± 0,13
II	58,50 ± 3,81*	15,90 ± 1,49	13,10 ± 1,05	1,20 ± 0,09
III	66,80 ± 5,95	8,70 ± 0,82	9,50 ± 0,17	0,80 ± 0,06
IV	73,40 ± 6,93	8,00 ± 0,61*	8,50 ± 0,79	0,70 ± 0,05
10 день				
I	58,70 ± 4,33	15,50 ± 1,01	15,80 ± 1,08	2,00 ± 0,29
II	47,40 ± 2,88*	23,20 ± 2,01	15,50 ± 0,93	5,20 ± 0,46
III	60,80 ± 4,62*	10,00 ± 2,13*	10,10 ± 1,64	1,50 ± 0,18
IV	69,70 ± 5,66	9,40 ± 3,29*	9,50 ± 1,85	1,10 ± 0,11

Нами установлено (таблица 4), что во время разгара болезни у поросят наблюдается значительное увеличение общей кислотности ($77,40 \pm 7,37$ титр. ед.), тогда как содержание свободной и связанной соляной кислоты снижено ($8,50 \pm 0,12$ и $7,80 \pm 0,18$ титр. ед.), также понижена переваривающая способность, что связано с недостаточным содержанием пепсина в желудочном содержимом. На 5 день лечения у животных I группы наблюдается снижение общей кислотности (до $61,80 \pm 4,84$ титр. ед), количество свободной и связанной соляной кислоты увеличилось до $10,70 \pm 0,48$ и $10,10 \pm 1,01$ титр. ед. соответственно. Переваривающая способность осталась на достаточном низком уровне ($0,90 \pm 0,13$ мм). У животных II группы общая кислотность ($58,50 \pm 3,81$ титр. ед) и содержание свободной и связанной соляной кислоты ($15,90 \pm 1,49$ и $13,10 \pm 1,05$ титр. ед.) пришли в норму. Переваривающая сила желудочного содержимого также существенно увеличилась ($1,20 \pm 0,09$ мм). У поросят III и IV групп показатели функционального состояния имеют лишь незначительную положительную динамику.

Через 10 дней мы установили, что у животных I и II групп показатели пришли в норму, тогда как у поросят III и IV групп функциональное состояние органов пищеварения неудовлетворительное.

Следовательно, полученные данные свидетельствуют о том, что композиция Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг способствует восстановлению функции желудочно-кишечного тракта за счет нормализации общей кислотности, содержания свободной и связанной соляной кислоты, а также усиленной экскреции ферментов.

2.2.10. Гистологическое изучение влияния композиции Полизон+Тиамин бромид на структуру желудка и тонкого отдела кишечника больных гастрозентеритом поросят

Изучение структуры органов пищеварения, в частности желудка и тонкого кишечника, имеет большое значение, так как эти органы раньше других реагируют на всякого рода изменения внутренней среды организма. По степени их поражения можно судить и об эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

При гистологическом исследовании желудка и кишечника у больных животных в препаратах обнаружено в эпителиальном покрове четко выраженная слизистая дистрофия, также характерно пропитывание слизистой оболочки серозным экссудатом. Неравномерно можно наблюдать гиперемия сосудов, клеточную инфильтрацию. Бокаловидные клетки сужены, но наблюдаются в большом количестве. Местами отмечена дистрофия, слущивание покровного эпителия, встречаются единичные некротические участки, а также участки с заметной регенерацией эпителия.

На гистологических препаратах желудка свиней опытной группы, получавших композицию Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг в течение 10 дней, отмечено, что стенки желудка соответствовали нормативным показателям. Желудок состоял из слизистой оболочки, подслизистой основы, мышечной и серозной оболочек. Слизистая оболочка состояла из эпителия, собственной и мышечной пластинок.

В собственной пластинке слизистой оболочки на препаратах встречаются железы желудка, между которыми можно наблюдать тонкие прослойки рыхлой волокнистой соединительной ткани. В ней отмечено небольшое количество лимфоидных элементов в виде диффузных инфильтратов, а также одиночных лимфатических узелков, которые расположены в области перехода желудка в двенадцатиперстную кишку.

В различных отделах желудка имеются железы. Различают три вида желудочных желез: собственные железы желудка, пилорические и кардиальные. Собственные железы желудка залегают в области тела и дна желудка. По строению эти железы представляют собой простые неразветвленные, иногда очень слабо разветвленные трубчатые железы. Пилорические железы расположены в зоне перехода желудка в двенадцатиперстную кишку.

Выраженных патоморфологических изменений в желудке не обнаружено, кроме небольших редких лимфоцитарных узелков в слизистой оболочке дна желудка. Такие же узелки обнаружены в пилорической части желудка, что является результатом иммунной реакции.

Морфофункциональная структура кишечника свиней опытной группы после применения композиции Полизон+Тиамин бромид характеризовалась следующими признаками: тонкая кишка состояла из слизистой оболочки, собранной в многочисленные кишечные складки, подслизистой основы,

мышечной и серозной оболочек. Слизистая на всем протяжении густо усеяна выступами – кишечными ворсинками. Эпителиальный слой ворсинок содержал одиночные бокаловидные клетки. Эпителий между ворсинками образовал крипты. Выраженных патоморфологических изменений в тонком кишечнике не обнаружено. В основном гистологическое строение тонкой кишки соответствует норме. Сосуды подслизистой основы без патологических изменений.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что воздействие композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг в течение 10 дней и после выздоровления способствует снижению выраженности дистрофических процессов, при этом исчезают выраженные патоморфологические изменения в желудке и тонком кишечнике. По результатам морфологических исследований можно рекомендовать применение композиции согласно указанной схемы лечения.

3. ВЫВОДЫ

1. Композиция Полизон+Тиамин бромид в лечебной дозе 5+4 мг/кг способствует восстановлению структуры желудка и тонкого отдела кишечника больных гастроэнтеритом поросят.

2. Композиция Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг способствует восстановлению функции желудочно-кишечного тракта больных гастроэнтеритом поросят за счет нормализации общей кислотности, содержания свободной и связанной соляной кислоты, а также усиленной экскреции ферментов.

3. Наиболее высокие показатели среднесуточного прироста живой массы наблюдаются у поросят, получавших композицию Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг, – в 1,45 раза.

4. Под влиянием композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг нормализуется содержание общего белка, билирубина и ферментов, что указывает на восстановление соотношения процессов синтеза и элиминации ферментов в клетках и холестеринобразовательной функции печени. Количество белка увеличилось с $55,89 \pm 4,33$ до $82,25 \pm 5,74$ г/л, что на 47,16 % больше по сравнению с исходными данными; количество общего билирубина снизилось с $13,68 \pm 1,05$ до $3,08 \pm 0,22$ мкмоль/л, АЛТ – с $1,24 \pm 0,11$ до $0,49 \pm 0,03$ мкмоль, АСТ – с $1,39 \pm 0,09$ до $0,65 \pm 0,05$ мкмоль, ЛДГ – с $850,00 \pm 43,12$ до $351,08 \pm 29,36$ ед. акт., альдолазы – с $21,06 \pm 3,60$ до $6,01 \pm 0,55$ ед., ЩФ – с $18,43 \pm 0,66$ до $8,05 \pm 0,05$ мг%.

5. Композиция Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг способствует более значительному возрастанию количества аминокислот в сыворотке крови по сравнению с Полизоном, что положительно сказывается на темпах роста поросят.

6. Применение композиции Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг

на фоне гидрокортизона более эффективно, чем МАОП в дозе 25 мг/кг+гидрокортизон; композиция стимулирует выработку агглютининов и повышает протективные свойства сыворотки кроликов, не оказывает митотоксического действия (не влияет на размножение эндогенных стволовых клеток). Это указывает на влияние композиции на функциональную активность Т-клеток – эффекторов и отсутствие цитотоксического эффекта на клетку. Композиция Полизон+Тиамин бромид в дозе 5+4 мг/кг способствует активизации фагоцитарной активности нейтрофилов крови.

7. Среднесмертельная доза композиции Полизон+Тиамин бромид составила: для белых мышей $1615,01 \pm 101,15$ мг/кг, крыс – $2050,63 \pm 180,69$ мг/кг. Композиция Полизон+Тиамин бромид, согласно ГОСТ 12.1.00.7-76, относится к III классу опасности. Коэффициент кумуляции составил 2.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Результаты проведенных опытно-производственных испытаний подтвердили иммуностимулирующий эффект и положительное влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на клеточные факторы защиты организма поросят, а также на секреторную активность желудочно-кишечного тракта, высокие показатели среднесуточного, относительного и абсолютного прироста живой массы, что дает возможность рекомендовать ее для широкого применения в свиноводстве.

Композиция Полизон+Тиамин бромид представляется перспективным препаратом для улучшения здоровья и повышения продуктивности поросят.

5. СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Тухфатова, Р.Ф. Антиульцерогенные свойства Полизона /Р.Ф. Тухфатова, А.Ф. Исмагилова, Б.П. Струнин //Международная научно-практическая конференция «Наука - сельскохозяйственному производству и образованию». – Смоленск, 2004. – С. 320-322.

2. Тухфатова, Р.Ф. Влияние Полизона на изменение массы внутренних органов /Р.Ф. Тухфатова, А.Ф. Исмагилова // Материалы XII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2005. – С. 807.

3. Тухфатова, Р.Ф. Полизон как индуктор пролиферативной и миграционной активности полипотентных стволовых кроветворных клеток / Р.Ф. Тухфатова, А.Ф. Исмагилова //Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современное развитие АПК: региональный опыт, проблемы, перспективы». – Ульяновск, 2005. - С. 346-348.

4. Тухфатова, Р.Ф. Влияние Полизона на титр агглютининов кроликов / Р.Ф. Тухфатова, А.Ф. Исмагилова //Материалы XVII Международной межвузовской научно-практической конференции «Новые фармакологические

средства в ветеринарии». – СПб., 2005. – С. 122.

5. Тухфатова, Р.Ф. Изменение титра агглютининов кроликов при применении Полизона /Р.Ф. Тухфатова, А.Ф. Исмагилова, Р.Ф. Халимов // Международная научно-практическая конференция «Проблемы и перспективы ветеринарии в XXI веке». – Улан-Удэ, 2005. – С. 109-111.

6. Тухфатова, Р.Ф. Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на пролиферативную и миграционную активность кроветворных клеток / Р.Ф. Тухфатова, А.Ф. Исмагилова //Экологические системы и приборы. – 2005. – № 9 – С. 57-58.

7. Тухфатова, Р.Ф. Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на клеточные и гуморальные факторы защиты организма поросят /Р.Ф. Тухфатова //Конференция СМУ «Перспективные направления научных исследований молодых ученых и студентов Урала и Сибири». – Троицк, 2005. – С. 147.

8. Тухфатова, Р.Ф. Влияние композиции Полизон+Тиамин бромид на секреторную активность желудочно-кишечного тракта /Р.Ф. Тухфатова // Конференция СМУ «Перспективные направления научных исследований молодых ученых и студентов Урала и Сибири». – Троицк, 2005. – С. 148-149.

9. Тухфатова, Р.Ф. Прирост массы поросят при применении композиции Полизон+Тиамин бромид и Полизона /Р.Ф. Тухфатова, А.Ф. Исмагилова, Р.Ф. Халимов //Всероссийская научно-практическая конференция «Перспективы агропромышленного производства регионов России в условиях реализации приоритетного национального проекта «Развитие АПК»». – Уфа, 2006. – С. 103.

10. Тухфатова, Р.Ф. Изменение аминокислотного состава крови поросят при применении композиции Полизон+Тиамин бромид /Р.Ф. Тухфатова, А.Ф. Исмагилова //17-й международной научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии». – СПб., 2006. – С. 76.

11. Тухфатова, Р., Исмагилова А. Проблемы сохранности поголовья свиней и пути их решения /Р. Тухфатова, А. Исмагилова //Свиноводство. – 2006. – № 5. – С. 23-24.

На правах рукописи

ТУХФАТОВА РЕГИНА ФАНОВНА

**ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
НОВОЙ КОМПОЗИЦИИ ПОЛИЗОН+ТИАМИНА БРОМИД
И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ГАСТРОЭНТЕРИТАХ 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 31

Формат А5. Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ФГУ "ФЦТРБ" (г. Казань)

Адрес: 420075, г. Казань, Научный городок-2

