



На правах рукописи

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Сергей'.

ЧУРИН СЕРГЕЙ ИВАНОВИЧ

20 АВГ 2009

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И ПРИМЕНЕНИЕ
«МЕЛАПОЛ ПЛЮС» В СВИНОВОДСТВЕ**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань – 2009

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (г. Казань).

Научный руководитель: Заслуженный деятель науки РФ и РТ,
доктор ветеринарных наук, профессор
Папунди Константин Христофорович

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук
Тарасова Наталья Борисовна

Доктор биологических наук
Гасанов Ализаде Солтанович

Ведущее учреждение: Башкирский государственный аграрный университет

Защита состоится «29» сентября 2009 г. в «10⁰⁰» часов на заседании диссертационного совета Д – 220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (ФГУ «ФЦТРБ - ВНИВИ» 420075, г. Казань, Научный городок – 2, тел. (843) 239-53-33, fax 239-71-31).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «ФЦТРБ - ВНИВИ» (г. Казань)

Автореферат опубликован на официальном сайте учреждения www.vniv.ru

Автореферат разослан «05» августа 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного
совета, кандидат ветеринарных наук



В.И. Степанов

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Интенсивное развитие животноводства, решение все возрастающей проблемы обеспечения населения страны полноценным питанием – в немалой степени зависит от совершенствования технологии ветеринарно-профилактических мероприятий на основе внедрения в производство новых методов и средств предупреждения и лечения болезней животных.

Прогресс ветеринарной фармакологии обеспечивается постоянным поиском и созданием новых высокоэффективных и безопасных препаратов. Установлено, что на метаболизм и иммунную систему животных многие факторы окружающей среды - несбалансированное кормление, стрессы различной этиологии - действуют неблагоприятно. Это требует применения различных средств, которые позволяют ослабить негативное влияние перечисленных факторов. В связи с этим, разработка, исследование и производство биологически активных препаратов для профилактики и лечения болезней, связанных с нарушением обмена веществ, стрессами, а также средств стимуляции роста и продуктивности животных является актуальным направлением ветеринарной науки (А.В. Иванов и др., 2000; В.А. Антипов, М.П. Семененко, 2001; К.Х. Папуниди и др., 2002; А.Г. Шахов, 2002; С.В. Бузлама, С.В. Шабунин, 2008).

Известно, что отъем поросят, особенно ранний, носит стрессогенный характер, это становится предпосылкой для возникновения нарушений обмена веществ и факторных инфекций. Для уменьшения отрицательных последствий стресса рациональным представляется использование средств его регуляции. Практика свиноводства в своем арсенале имеет ряд соответствующих лечебных препаратов. Среди них адаптогены, производные дикарбоновых кислот, препараты тимуса, витамины (А, Е, С), олигопептиды и др. Однако этого недостаточно, и постоянно ведется поиск новых высокоэффективных, не ксенобиотичных, экологически безопасных препаратов (А.И. Дедкова, С.И. Химичева, 2006; В.С. Бузлама, И.В. Трутаев, 2007; Л.Ю. Топурия, 2007).

В этом отношении перспективно использование мелатонина, как вещества выполняющего в организме целый ряд специфических и жизненно важных функций, обладающего антиоксидантными свойствами, иммуномодулирующим действием, модулирующим влиянием на циркадную организацию физиологических функций и обеспечивающий синхронизацию

биологических ритмов организма с ритмами окружающей среды (В.Н. Анисимов, 2006; К.С. Эльбекьян, 2007; R.J. Reiter, 1999; E.R. Sutherland et al., 2002).

В связи с этим, изучение фармако-токсикологических свойств нового препарата «Мелапол Плюс» на основе синтетического аналога мелатонина и транквилизатора феназепам и возможность применения его в свиноводстве представляется весьма актуальным.

Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ отдела токсикологии ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» по заданию «Токсикологическая безопасность» (Рег. номер 01200202603).

Цель и задачи исследований. Целью исследований явилось изучение фармако-токсикологических свойств препарата «Мелапол Плюс» и возможность применения его в свиноводстве. В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

- изучить токсикологические свойства препарата «Мелапол Плюс»;
- изучить влияние препарата «Мелапол Плюс» на гематологические, биохимические и иммунологические показатели поросят;
- изучить влияние «Мелапол Плюс» на продуктивные показатели и сохранность поросят;
- провести ветеринарно-санитарную оценку мяса, патологоанатомические и гистологические исследования органов и тканей поросят, обработанных препаратом «Мелапол Плюс».

Научная новизна работы. Впервые определена острая и хроническая токсичность, эмбриотоксическое и тератогенное действие, аллергизирующие свойства препарата «Мелапол Плюс» и показана его безвредность для животных. Изучено влияние препарата на гематологические, биохимические, иммунологические показатели и установлена возможность применения его для повышения продуктивности и сохранности поросят. Проведена ВСЭ мяса и изучена гистоструктура тканей внутренних органов животных после применения препарата «Мелапол Плюс».

Практическая значимость работы. Для практической ветеринарии и свиноводства предложен новый препарат пролонгированного действия «Мелапол Плюс», способствующий нормализации обменных процессов,

повышению продуктивности и сохранности поросят. Применение гормонального и психотропного вещества в одном носителе дает возможность расширить спектр и продолжительность действия активно действующих веществ и получать эффект синергизма от совместного их применения.

По результатам проведенных исследований разработана Временная инструкция по применению препарата «Мелапол Плюс» в свиноводстве для повышения сохранности и продуктивности животных, утвержденная Главным Управлением Ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан (2009).

Основные положения, выносимые на защиту:

- токсикологическая оценка препарата «Мелапол Плюс»;
- гематологические, биохимические и иммунобиологические показатели крови поросят при применении препарата «Мелапол Плюс»;
- продуктивные показатели и сохранность поросят при применении препарата «Мелапол Плюс»;
- ВСЭ мяса и гистоструктура тканей внутренних органов поросят при применении препарата «Мелапол Плюс».

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на научных сессиях ученого совета ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по итогам НИР за 2007-2008 г., Международных и Всероссийских конференциях и симпозиумах (Казань, 2007, 2008, 2009; Троицк, 2007; Ижевск, 2008; Ульяновск, 2008; Воронеж, 2008; Екатеринбург, 2008; Санкт-Петербург, 2008, 2009; Киев, 2009).

Публикация. По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе одна - в рекомендованном ВАК РФ издании: журнал «Ветеринарный врач».

Объем и структура диссертации. Диссертация представляет собой рукопись компьютерного набора объемом 153 страниц, и включает: общую характеристику работы, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, библиографический список использованной литературы и приложения. Работа иллюстрирована 21 таблицей и 19

рисунками. Список использованной литературы включает 326 источников, в том числе 83 иностранных авторов.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2007–2009 гг. в отделе токсикологии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань) и в условиях ООО Агрофирма «Сарсаз» Чистопольского района Республики Татарстан.

В опытах было использовано 223 белых крыс, 46 морских свинок, 13 кроликов и 80 поросят. Подопытные и контрольные группы формировали по принципу аналогов. В течение всего опыта животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления.

Определение параметров острой, хронической токсичности, эмбриотоксического и тератогенного действия препарата проводили на белых крысах согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005). Изучение состояния внутренних органов и скелета эмбрионов проводили по методу Wilson (1965), и Dawson (1926), модифицированные в отделе эмбриологии НИИЭМ АМН СССР.

Определение кумулятивных свойств проводили по методу Lim R. et al. (1961). Коэффициент кумуляции высчитывали по формуле Кагана Ю.С., Станкевича В.В. (1964), согласно принятой классификации Медведь Л.И. (1964).

Изучение раздражающих свойств препарата проводили в соответствии с «Методическими указаниями к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснование предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны» (1980).

Исследования алергизирующего действия препарата «Мелапол Плюс» проводили на морских свинках, руководствуясь «Требованиями к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосфере» (1996).

Морфологические исследования крови проводили по общепринятой методике.

Биохимические исследования состояли из определения в сыворотке крови общего белка на рефрактометре ИРФ-22, а его фракций –

турбидиметрическим методом (И.П. Кондрахин, 2004). Активность аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, креатинкиназы, лактатдегидрогеназы, амилазы, гамма-глутамилтрансферазы, щелочной фосфатазы, мочевой кислоты, мочевины, креатинина, общего билирубина, а также концентрации общего кальция, неорганического фосфора, калия, натрия, железа, хлора, магния и глюкозу проводили на анализаторе «Microlab 200».

Содержание Т- и В лимфоцитов в периферической крови определяли методом спонтанного розеткообразования с гетероциклическими эритроцитами Е-РОК и ЕАС-РОК (И.П. Кондрахин и др., 1985).

Лизоцимную активность сыворотки крови поросят определяли на суточной культуре тест – микроба *Micrococcus lysodecticus* по И.Ф. Храбустовскому и Ю.М. Маркову (1974). Фагоцитарную активность нейтрофилов проводили по С.А. Кост и М.И. Стенко (1974), в качестве тест – микроба использовали *Staphilococcus aureus* шт. 209.

Ветеринарно-санитарную экспертизу мяса проводили в соответствии с ГОСТами 7269-79, 23392-78, 21237-75, «Правилами ВСЭ» (1988). Биологическую ценность мяса определяли на крысятах по приросту массы тела и по коэффициенту эффективности корма в соответствии с рекомендациями ВАСХНИЛ (1977).

Материал для гистологических исследований фиксировали в 5%-ном водном растворе нейтрального формалина. Гистологические препараты изучали в светооптическом микроскопе (OLIMPUS CX31), оценивая изменения структуры органов и тканей, а также параметры морфометрии, накладывая окуляр-насадку (МОВ-1-15^А) и окуляр сетку, совместно с профессором КГАВМ им. Н.Э. Баумана И.Н. Заляловым за что выражаем ему благодарность.

Обработку экспериментально полученного цифрового материала проводили статистическим методом с применением критерия достоверности по Стьюденту на персональном компьютере с использованием программного пакета Microsoft Excel XP (2000).

Библиографическое описание использованных в диссертации литературных источников осуществляли в соответствии с требованиями действующего ГОСТа.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Изучение токсикологических свойств препарата «Мелапол Плюс»

«Мелапол Плюс», синтезированный в ИОФХ им. А.Е.Арбузова КазНЦ – комплексный пролонгированный препарат, представлен синтетическим биогенным мелатонином (гормон шишковидной железы - химическое название N-[2-(5-Метокси-1Н-индол-3-ил)этил]ацетамид), феназепамом (транквилизатор бенздиазепинового ряда - химическое название 7-бром-5(орто-хлор)фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он), а так же пластификатор и полиэтилцианокрилат в качестве биоразлагаемой полимерной основы. Препарат представляет собой гранулы цилиндрической формы, коричневого цвета – оттенок не нормируется. Длина гранулы $0,9 \pm 0,2$ мм, диаметр $2,2-2,4$ мм, средняя масса гранулы $50 \pm 5,0$ мг. Среднее содержание АДВ в одной грануле: мелатонина – 7,5 мг (15%), феназепам – 7,5 мг (15%); формообразующих веществ: полиэтилцианокрилат – 27 мг (60%), пластификатор – 4,5 мг (10%). Растворимость: вода – практически не растворим, спирт этиловый – ограниченно растворим; диметилсульфоксид, хлораформ, ацетонитрил – хорошо растворим.

3.1.1 Определение острой токсичности «Мелапол Плюс» на белых крысах

Объектом исследования служили 60 белых крыс живой массой 180-220 г. обоего пола, разделенных на 10 групп по 6 животных в каждой. Первые 9 групп являлись опытными: 1-ой группе белых крыс препарат вводили в дозе 1000 мг/кг, 2-ой – 1500, 3-й – 2000, 4-ой – 2500, 5-ой – 4500, 6-ой – 5000, 7-ой – 10000, 8-ой – 15000, 9-ой – 20000 мг/кг, 10-ая служила контролем.

Среднесмертельную дозу (LD_{50}) испытуемого препарата по существующим методам в силу отсутствия гибели животных определить не удалось, тем самым можно заключить, что препарат «Мелапол Плюс» по классификации химических веществ по степени опасности относится к IV классу – незначительно опасные вещества (ГОСТ 12.1.007.76). Определена максимально вводимая доза препарата «Мелапол Плюс», введение препарата в дозах более 20 г/кг невозможно, в виду его нерастворимости в воде и объема желудка крыс.

3.1.2 Определение хронической токсичности «Мелапол Плюс» на белых крысах

Для изучения хронической токсичности сформировали 3 группы белых крыс по 18 гол в каждой (живой массой 120-140 г.), 1-ая группа получала

препарат в дозе 1/50, 2-ая - 1/20 от максимально вводимой дозы (20 г/кг), третья служила контролем и получала растительное масло. – введение препарата осуществляли перорально ежедневно в течение 60 суток.

Среднесуточный прирост в первой группе был выше показателя контрольных животных на 6,06%, во второй группе на 60 сут наметилась тенденция к снижению живой массы и была ниже таковых контрольной на 7,07%.

Количество эритроцитов и лейкоцитов в первой группе увеличилось на 5,4 и 4,4% соответственно, во второй опытной группе на 20 сут отмечалась тенденция к увеличению данных показателей с последующим незначительным понижением их относительно контроля.

Уровень глюкозы и общего белка в крови животных первой группы повысился по 7,8%. Во второй группе белых крыс на 60 сут эксперимента отмечается тенденция снижения количества гемоглобина, глюкозы – на 8,8%, общего белка – на 5,5% и увеличения значения СОЭ относительно контроля.

Имеющиеся отклонения в содержании белковых фракций (альбумины, α -, β - и γ -глобулины) между контрольной и опытными группами животных незначительны и не выходят за пределы физиологической нормы для данного вида животных.

У белых крыс первой группы активность аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, креатинкиназы, и лактатдегидрогеназы оставалась несколько ниже контроля во все сроки исследования. Во второй группе увеличение активности данных ферментов к 60 сут составило 5,5; 7,1; 5,4; 4,0; 12,2% соответственно и активность ЛДГ существенно не отличалась от таковой контрольной группы.

3.1.3 Определение кумулятивных свойств «Мелопол Плюс» на белых крысах

Исследования проведены на 10 крысах обоего пола, живой массой 140-160 г. Объем вводимой взвеси препарата составлял от 1 до 5 мл в зависимости от живой массы и периода введения. Начальную дозу взяли как 1/10 от максимально вводимой (20 г/кг). В каждые последующие 4 дня дозу увеличивали в 1,5 раза.

Коэффициент кумуляции составил 8,3, который по классификации химических веществ по степени кумуляции (Л.И. Медведь, 1964) определяется как слабовыраженный и свидетельствует о развитии повышенной резистентности к препарату «Мелопол Плюс».

Учитывая полученные результаты можно заключить, что препарат «Мелапол Плюс» не обладает кумулятивными свойствами.

3.1.4 Определение раздражающего и кожно-резорбтивного действия «Мелапол Плюс» на кроликах

Оценку кожно-резорбтивного действия проводили при однократных и повторных (7 аппликаций) на 8 кроликах породы «Шиншилла» светлой масти, живой массой 1,7 - 2,0 кг возрастом 4,5 месяца. Препарат наносили в виде взвеси из расчета 20 мг/см² площади выстриженного участка (5х5). Правый бок служил для аппликации изучаемого препарата, левый для контроля. Четырём кроликам аппликации накладывали однократно на 4 ч, другим четырём – также на 4 ч, но ежедневно в течение 7 дней. Реакцию кожи регистрировали по окончании экспозиции: через 1-16 ч после однократной аппликации и через 1-24 ч после повторных аппликаций.

После однократных и повторных нанесений взвеси препарата «Мелапол Плюс» на выстриженную кожу животных и снятия аппликации отека не было, пальпация была безболезненной, цвет кожи был идентичен таковым контрольного участка. Внешнее состояние кожного покрова после экспозиции препарата не отличалось от контрольного в течение всего периода наблюдения.

Изучение местного действия препарата на слизистую оболочку глаза проводили однократно на 5 кроликах. Для этого в конъюнктивный мешок вводили препарат в количестве 50 мг, второй глаз служил контролем.

Через 5-10 мин после введения препарата в конъюнктивный мешок отмечалось незначительное слезотечение, которое исчезало спустя 20-24 часа. В дальнейшем каких-либо признаков раздражения слизистой оболочки глаза, выражающихся в инъектировании сосудов конъюнктивы и гиперемии, не отмечалось.

3.1.5 Определение аллергизирующего действия «Мелапол Плюс» на морских свинках

Исследования проводили в 2-х сериях на 46 морских свинках живой массой 250-300 г, разделенных по принципу аналогов на 2 опытные и 2 контрольные группы по 10 голов в каждой и 6 – интактных животных. Определение тестирующих концентраций для проведения специфических алерготестов *in vivo* проводили на 4 интактных морских свинках (по 2 животных на конъюнктивную и провокационную кожную капельную пробу). В ходе данного эксперимента была выбрана доза препарата для

провокационной кожной капельной и конъюнктивальной пробы. В соответствии с предъявляемыми требованиями для проведения алерготестов с клетками крови (in vitro: РСЛЛ – реакция специфического лизиса лейкоцитов, РНДТК – реакция непрямой дегрануляции тучных клеток) рабочая концентрация препарата «Мелапол Плюс» составила 0,052%.

На втором этапе животных опытных групп сенсибилизировали, вводя однократно в кожу наружной поверхности уха ближе к его основанию 50 (1-я опытная группа) и 200 мкг (2-я опытная группа) препарата «Мелапол Плюс» на животное растворенного в 15%-ном растворе ДМСО по 0,02 и 0,1 мл соответственно. Животным контрольных групп вводили 15%-ный раствор ДМСО в объеме 0,02 (1-я контрольная группа) и 0,1 мл (2-я контрольная группа) на животное. Выявление сенсибилизации проводили на 8 сутки.

Результаты изучения алергенных свойств «Мелапол Плюс» свидетельствуют об отсутствии реакции при нанесении препарата на кожу у подопытных животных. Полученные результаты по РСЛЛ и РНДТК показывают лишь небольшой лизис и оцениваются как отрицательные, так как по условию опыта положительная реакция - лизис лейкоцитов 10 и тучных клеток 1,31%.

3.1.6 Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств препарата «Мелапол Плюс» на белых крысах

Эксперименты были проведены на 50 самках белых крыс половозрелого возраста живой массой 180-200 г, которые были сформированы по принципу аналогов и разделены на 2 равнозначные группы по 25 голов: первая служила контролем, а второй – в виде взвеси вводили препарат «Мелапол Плюс» из расчета 1/20 от максимально вводимой (20 г/кг). Животным контрольной группы, аналогичным образом, вводили растительное масло в таком же объеме. Введение препарата и растительного масла проводили ежедневно с 1 по 19 сут беременности. На 20 сут беременности проводили эвтаназию 13 животных из каждой группы для получения эмбрионального материала.

Установлено, что применение препарата «Мелапол Плюс» не оказывает существенного влияния на количество желтых тел в яичниках, так как их число в яичниках контрольной группы было равно таковой опытной группы и составляло по $12,45 \pm 0,25$ и $12,40 \pm 0,38$ соответственно. Количество мест имплантации в опытной группе составляло $11,29 \pm 0,21$, против $11,31 \pm 0,13$ в группе контроля. Количество живых плодов в контрольной и

опытной группе составляло $10,25 \pm 0,15$ и $10,23 \pm 0,17$ соответственно. Судя по количеству мертвых плодов в обеих группах препарат «Мелапол Плюс» не вызывает особых изменений у животных.

Предимплантационная гибель плодов в группе, получавшей препарат «Мелапол Плюс», меньше на 2,3%, чем в группе, получавшей растительное масло. В то время как постимплантационная гибель плодов в опытной группе по сравнению с контролем увеличилась на 0,9%. Общая эмбриональная смертность в опытной группе белых крыс меньше на 1,1%, чем в контрольной. Краниокаудальный размер плодов у белых крыс как в контрольной, так и в опытной группах был одинаковым и составил $3,26 \pm 0,07$ и $3,24 \pm 0,05$ см соответственно. Выживаемость плодов в опытной группе была выше на 0,3%, чем в группе контроля. Масса плодов опытной и контрольной групп не имела значительных отклонений, и была равна $3,39 \pm 0,08$ и $3,38 \pm 0,09$ г соответственно.

При внешнем осмотре извлеченных из матки плодов обеих групп животных, морфологических изменений не выявили. В ходе исследования состояния внутренних органов плодов методом Wilson (1965) аномалий развития, а также нарушение их топографии не установлено.

В результате исследования препаратов плодов по методу Dawson (1926) установлено, что топография костных и хрящевых закладок в скелете не нарушается. У плодов подопытных животных задержка окостенения костей осевого скелета не отмечалась. Количество шейных, грудных, поясничных, крестцовых позвонков и ребер в обеих группах имели равные значения. Имело место недостоверное отклонение в количестве костей грудины, хвостовых позвонков, пястных и плюсневых костей.

В результате изучения постнатального развития потомства самок белых крыс установлено, что продолжительность беременности, количество родившихся белых крыс, мертворожденных, сроки отлипания ушей, опущения, прозрения и прорезывания резцов опытной группы животных существенно не отличаются от таковых группы контроля. Не наблюдаются различия и в постнатальной смертности.

3.2 Результаты применения препарата «Мелапол Плюс» на поросятах

3.2.1 Морфологические показатели крови поросят на фоне применения препарата «Мелапол Плюс»

Научно-производственный опыт был проведен в условиях свиноводческого комплекса по выращиванию и откорму свиней ООО А/Ф «Сарсаз» Чистопольского района Республики Татарстан. Для этого было сформировано по принципу аналогов 4 группы поросят крупной белой породы, живой массой 3,4 – 3,8 кг, по 20 в каждой. Поросятam первой и второй групп, используя специальный шприц – иглу (ТУ-64-1-3177-77), вводили в подкожную клетчатку правой паховой области препарат «Мелапол Плюс» по 1 и 2 гранулы соответственно, третьей группе поросят вводили аналогично феназепам по 1 грануле, животные четвертой группы служили контролем. Инъекцию препаратов проводили двукратно – первый раз в 13-15 сут возрасте, второй раз – спустя 39 сут после первой.

При наблюдении за поросятами было установлено, что они хорошо развивались, охотно сосали матку и поседали подкормку, что свидетельствует об отсутствии отрицательного влияния препаратов на животных.

У подопытных поросят на протяжении всего периода исследования, с момента введения препарата и до 119-121 сут возраста среднее содержание эритроцитов и лейкоцитов увеличивалось в пределах нормативных физиологических значений. Увеличение количества эритроцитов и лейкоцитов имело некоторую зависимость от содержания мелатонина в композиции с феназепамом.

При анализе результатов, полученных при проведении эксперимента, установлено, что «Мелапол Плюс» способствует нормализации морфологических показателей крови опытных поросят.

3.2.2 Влияние препарата «Мелапол Плюс» на биохимические показатели поросят

Введение препарата поросятam оказало благоприятное влияние и на показатели белкового обмена. Так, в первой группе поросят на 39, 73 и 106 сут увеличение общего белка составило 6,5; 10,5 и 5,7%, а во второй группе в эти сроки – на 9,8; 14,8 и 8,6% соответственно относительно контрольной группы. Содержание альбуминов на 73 и 106 сут было выше: в первой группе – на 10,7 и 13,5%; во второй – на 11,3 и 12,8% относительно контроля. В третьей группе увеличение альбуминов на 39, 73 и 106 сут составило 11,7, 8,7 и 1,9% соответственно.

У поросят, введенным по одной и две гранулы препарата «Мелалол Плюс», отмечается достоверное снижение активности аспартаминотрансферазы на 31,3-7,2% и 52,0-20,6%. Снижение активности аланинаминотрансферазы в первой и во второй группах к 73 сут составило – 30,6 и 44,7%, амилазы к 106 сут – 30,3 и 30,4%, гамма-глутамилтрансферазы к 106 сут – 19,4 и 26,2% относительно контроля. Результаты исследования активности ферментов представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Показатели активности ферментов у подопытных поросят на фоне применения препарата «Мелалол Плюс» и феназепам (n=5)

Срок иссл., сут	Группа			
	1	2	3	контроль
аспартаминотрансфераза, Ед/л				
39	64,40±3,91*	45,00±5,52**	93,60±12,96	93,80±11,96
73	60,40±4,40*	59,80±4,13*	80,20±5,56	84,00±9,18
106	51,40±3,49	44,00±4,37	54,80±5,19	55,40±1,96
аланинаминотрансфераза, Ед/л				
39	57,60±5,39	43,40±7,56	65,60±9,28	65,20±8,39
73	28,60±3,17*	22,80±3,09**	40,60±3,47	41,20±3,93
106	34,20±2,22*	31,80±1,19*	40,00±6,44	40,40±1,30
креатинкиназа Ед/л				
39	338,48±70,52	325,62±81,76	352,34±55,48	369,18±69,70
73	602,34±92,11	595,80±53,93	621,42±59,14	663,26±22,03
106	370,08±39,98	329,24±51,53	409,36±34,86	499,24±85,70
лактатдегидрогеназа, Ед/л				
39	722,80±63,77	701,40±65,33	728,00±59,87	736,00±66,81
73	642,40±63,70	639,60±58,41	670,80±40,50	698,20±55,71
106	445,60±39,37	442,60±65,20	457,20±57,50	458,40±56,70
амилаза, Ед/л				
39	1555,20±240,22	1451,00±173,32	1589,40±134,56	1610,00±225,60
73	1530,60±82,71	1528,80±84,94	1587,00±132,79	1719,40±101,53
106	1791,40±275,87*	1789,40±103,80**	2317,60±219,83	2572,00±193,86
гамма-глутамилтрансфераза, Ед/л				
39	52,40±10,03	49,00±9,93	55,60±7,13	56,20±7,01
73	44,40±8,54	37,80±9,02	47,80±5,39	49,80±3,40
106	33,20±3,02*	30,40±2,11**	37,60±2,75	41,20±1,02

Примечание - * p<0,05; ** p<0,01

Также отмечено снижение сывороточной креатинкиназы и незначительно - лактатдегидрогеназы. Достоверных различий по уровню активности данных ферментов в третьей опытной группе не установлено. Вероятно, причинами гиперферментемии у контрольных животных на фоне

повреждающего действия токсичных продуктов перекисного окисления липидов (обусловленные стресс реакциями, нарушения обмена веществ и технологии содержания) является выход ферментов в кровяное русло из пораженных тканей, а снижение их содержания в клетках стимулирует по принципу обратной связи синтез последних. Антиоксидантные свойства мелатонина связаны с нейтрализацией токсичных элементов образующихся при перекисном окислении липидов, повышением активности основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, Сочетание этих механизмов обеспечивает мощный антиоксидантный эффект гормона.

Анализ результатов изучения безбелковых азотистых веществ и пигментного обмена крови (табл. 2) показал, что количество мочевой кислоты, мочевины, общего билирубина и креатинина у опытных групп поросят оставалось ниже таковых контрольной группы во все периоды исследования. Вероятно, это связано с лучшей утилизацией безбелковых азотистых оснований и отложением их в организме у опытных групп животных.

Таблица 2 - Содержание безбелковых азотистых оснований и пигментный обмен у поросят при применении «Мелапол Плюс» и феназепам (n=5)

Срок иссл., сут	Группа			
	1	2	3	контроль
мочевая кислота, мкмоль/л				
39	61,80±13,91	58,80±12,68	72,80±12,93	76,40±17,05
73	31,60±8,05	29,20±7,74	39,60±4,10	44,20±5,58
106	32,20±5,95*	34,80±5,89	43,80±6,04	47,80±3,11
мочевина, ммоль/л				
39	6,56±0,48	6,10±0,30	6,86±0,71	7,16±0,74
73	4,52±0,44	4,26±0,30*	5,36±0,76	5,46±0,27
106	6,14±0,27	6,48±0,54	6,34±0,53	6,64±0,33
креатинин, мкмоль/л				
39	73,00±2,00	68,80±3,86	80,60±3,65	81,00±5,50
73	63,20±1,92*	62,40±2,36*	69,60±1,44	72,20±1,98
106	84,00±4,23**	76,40±8,71**	98,80±8,44	113,00±4,64
общий билирубин, мкмоль/л				
39	1,80±0,00	1,84±0,04	2,64±0,59	3,00±0,58
73	1,86±0,07	1,90±0,11	1,84±0,04	1,98±0,20
106	1,84±0,04	1,80±0,00	1,80±0,00	1,80±0,00

Примечание - * p<0,05; ** p<0,01

При определении микро- и макроэлементов в крови поросят установлено, что содержание общего кальция, железа, магния и хлора в первой и во второй группах во все периоды исследования было выше таковых контрольной группы. Отмечено незначительное снижение содержания неорганического фосфора. Соотношение натрия и калия были в пределах физиологической нормы для данного вида животных.

По результатам проведенных исследований установлено, что препарат «Мелапол Плюс» оптимизирует обменные процессы, проявляющиеся в повышении содержания белков, снижении активности ферментов, лучшей утилизацией безбелковых азотистых оснований, увеличении содержания необходимых для нормальной деятельности организма микро- и макроэлементов, а также нормализации электролитного обмена.

3.2.3 Влияние препарата «Мелапол Плюс» на показатели естественной резистентности поросят

В результаты исследований клеточных факторов неспецифической резистентности поросят (табл.3) установлено, что подкожная имплантация препарата «Мелапол Плюс» повышает их активность.

Таблица 3 - Показатели неспецифической резистентности поросят на фоне применения «Мелапол Плюс» и феназепам (n=5)

Группа	Фагоцитарная активность нейтрофилов, %	Фагоцитарный индекс	Фагоцитарное число	Фагоцитарная емкость
39-е сут				
1	36,20±1,56	4,73±0,24	1,70±0,04**	14,18±0,86
2	37,80±0,96	4,88±0,11	1,85±0,06**	15,45±0,74*
3	33,34±1,08	4,62±0,09	1,58±0,02	12,52±0,63
контроль	32,80±1,52	4,55±0,22	1,48±0,04	12,07±0,75
73-е сут				
1	43,40±3,91	6,79±0,59	2,87±0,05*	38,89±1,01**
2	44,80±3,49	6,97±0,46	3,08±0,08**	42,47±1,85**
3	40,40±1,86	6,51±0,74	2,59±0,22	34,57±3,35
контроль	39,20±2,90	6,49±0,64	2,50±0,14	31,81±1,66
106-е сут				
1	44,20±3,65	6,86±0,72	2,96±0,17	47,97±2,94
2	45,40±3,37	7,50±0,67	3,33±0,06*	56,29±2,36*
3	43,00±2,52	6,65±0,43	2,83±0,09	43,53±1,17
контроль	42,80±3,49	6,74±0,95	2,79±0,22	42,30±3,61

Примечание - * p<0,05; ** p<0,01

Установлено, что в группе поросят после повторного введения по две гранулы препарата произошло достоверное увеличения содержания Т-лимфоцитов – на 16,2% ($p < 0,05$) и В- лимфоцитов – на 31,0%, лизоцимная активность сыворотки крови превышала контрольные величины на 36,9%. Существенных изменений по содержанию Т- и В- лимфоцитов, лизоцимной активности в третьей группе не установлено.

3.2.4 Продуктивные качества и сохранность поросят на фоне применения препарата «Мелапол Плюс»

Результаты проведенных исследований показали, что при равноценных условиях кормления и содержания применение комплексного препарата на основе синтетического аналога мелатонина и транквилизатора феназепам не оказывает негативного влияния, на клинико-морфологические показатели поросят.

При введении препарата опытные поросята имели более высокую интенсивность роста по сравнению с контрольными животными. Так, к 39 сут исследования среднесуточные приросты живой массы в первой, во второй и третьей группах поросят были выше на 14,5; 16,3 и 4,5%: к 73 сут – на 12,7; 14,7 и 3,9%; к 106 сут – на 2,2; 3,4 и 1,1% соответственно в сравнении с контролем. Живая масса поросят на конец опыта была выше в первой группе на 7,4; во второй – на 8,3 и третьей – на 0,8%.

Установлено, что двукратное введение препарата «Мелапол Плюс» поросятам положительно влияет на процессы обмена веществ; при этом увеличивается живая масса и повышается сохранность животных.

3.2.5 Ветеринарно - санитарная экспертиза мяса поросят на фоне применения препарата «Мелапол Плюс»

На 106 сут исследования производили убой 3-х животных из первой, второй и контрольной групп, отбирали пробы для проведения ветеринарно – санитарной экспертизы с учетом комплекса регламентируемых показателей.

Проведенными исследованиями установлено, что мясо животных всех подопытных групп по своим органолептическим, микробиологическим и физико-химическим показателям является доброкачественным. Установлено, что имплантация препарата «Мелапол Плюс» не оказывает отрицательного влияния на качество мяса поросят.

3.2.5.1 Биологическая оценка мяса поросят, подвергшихся воздействию препарата «Мелапол Плюс»

Объектом исследования служили 24 белых крысят одинаковых по исходной массе, разделенных на 3 группы по 8 гол в каждой. Первая и вторая

группа получала мясо поросят, подвергшихся имплантации препаратом «Мелапол Плюс» по одной и две гранулы соответственно, третья группа – служила контролем и получала мясо интактных поросят.

На основании результатов биологических исследований можно сделать вывод, что мясо, полученное от животных, подвергшихся воздействию препарата «Мелапол Плюс», по приросту живой массы и коэффициенту эффективности корма не имело существенных отличий от мяса интактных животных.

3.2.6 Гистологические исследования органов и тканей подопытных поросят, подвергнутых имплантации препаратом «Мелапол Плюс»

При послеубойном осмотре туш опытных животных первой и второй групп, подвергнутых воздействию препаратом «Мелапол Плюс», отмечали пропорциональное телосложение, повышенную упитанность, хорошее развитие жировой клетчатки, соматической мускулатуры и скелета, твердость его костей. В области паха на месте инъекции препарата обнаруживали ограниченный клеточный инфильтрат, окруженный слоем новообразованной соединительной ткани. Введенные гранулы «Мелапол Плюс» были резко уменьшенными в объеме и в следствие активного усвоения их компонентов окружающей тканью становились размягченными, приобрели светло-серую окраску. Не увеличенная в объеме селезенка этих животных выделялась многочисленностью лимфатических узелков и наличием в них выраженных центров размножения. В селезенке опытных поросят пролонгированное воздействие препарата «Мелапол Плюс» способствовало проявлению лимфопролиферативных реакций в регенераторных зонах органа и последующих процессов дифференциации иммунокомпетентных клеток.

Рисунок гистологического строения селезенки контрольных животных был плохо обозначенным. Большинство лимфатических узелков выделялись небольшой величиной, разреженностью клеток ретикулярной основы. Плохо обозначенной герминативной зоне узелков обнаруживали редкие фигуры митоза, присутствие в основном больших лимфоцитов. В большинстве лимфатических узелков отмечали наличие только разреженной маргинальной зоны, без признаков четкой клеточно-зонального разделения белой пульпы. Следует отметить малочисленность клеток Т-зависимой периартериальной зоны узелков. Отмеченные изменения в структуре селезенки контрольных

поросят отражали состояния ослабления механизмов клеточной иммунной реактивности по сравнению с потенциалом в выработке антител.

Печень опытных поросят была равномерно окрашена в светло - коричневый цвет, не увеличена в объеме и имела развитую долевую структуру. Микроструктура органа выделялась четким рисунком долькового, балочного строения, а сами популяции гепатоцитов характеризовались однородностью структуры цитоплазмы и ядра. В нуклеоплазме этих ядер преобладала активная форма рибонуклеопротеидов в виде эухроматина, а в ее центральной части располагались пиронинофильные ядрышки. В реакциях на обнаружение гликозаминогликанов цитоплазма гепатоцитов, вследствие насыщения ее гликогеном, выделялась темно-красной мелкоструктурированной окраской.

Печень контрольных поросят выделялась неравномерной окраской в виде чередования светло-, темно-коричневых и серых участков, как на поверхности, так и в толще органа. Рисунок долькового строения был слабовыраженным. Микроструктура органа выделялась умеренно выраженной структурой балочного строения. В цитоплазме многих гепатоцитов обнаруживали присутствие крупных липидных включений. В части эпителиальных клеток органа отмечали загруженность цитоплазмы желчью. Гепатоциты выделялись неравномерно выраженной цитолеммой, большая часть из них приобретала светлую окраску цитоплазмы и была обеднена гликогеном.

Почки опытных поросят выделялись четкой структурой нефронов. В гломерулярном аппарате и канальцевой системе органа отсутствовали признаки нарушения гемодинамики, клубочковой фильтрации и тубулярной непроходимости

В почках контрольных поросят повсеместно в клубочках отмечали признаки нарушения транскапиллярного обмена, проявляющиеся неравномерной выраженностью профилей капилляров клубочков и отеком полости клубочков, зернистой дистрофией эпителия проксимального отдела извитых канальцев, атрофией эпителия дистального отдела тубулярной системы с оголением базальной мембраны и выпадением ядер в их просвет. В отдельных участках канальцевой сети в результате локальной деструкции базальной мембраны и присутствия белковых частиц полностью утрачивалась проходимость.

В аденогипофизе опытных поросят обнаруживали преобладание популяции светлоокрашенных ацидофильных и хромоформных клеток, что отражало процесс активной выработки тропных гормональных продуктов, стимулирующих биосинтетические процессы в организме вследствие кастрации и антигонадотропного действия испытуемого препарата.

В аденогипофизе контрольных поросят обнаруживали преобладание популяции светлоокрашенных хромофобных клеток, что отражало замедление процесса специфической дифференцировки резервных клеток органа, в результате чего уменьшалась выработка оксифильными эндокриноцитами гормональных продуктов, стимулирующих биосинтетические процессы в организме.

Таким образом, применение «Мелапол Плюс» способствовало увеличению численности популяции ацидофильных эндокриноцитов аденогипофиза, стимулировало синтетические, регенераторные процессы в паренхиме печени, почек, селезенки.

4 ВЫВОДЫ

1. Препарат «Мелапол Плюс» является малотоксичным для белых крыс и по ГОСТу 12.1.007-76 относится к 4-му классу опасности. Препарат не обладает кумулятивными свойствами ($K_{квн} = 8,3$), кожно-резорбтивным и местно-раздражающим действием на кожу и слизистую оболочку глаз, не проявляет аллергического, эмбриотоксического и тератогенного действий.

2. Внутривентрикулярное введение «Мелапол Плюс» белым крысам в течение 60-и сут в дозах 400 и 1000 мг/кг не оказывает отрицательного влияния на их клинический статус, морфологические и биохимические показатели крови.

3. Двукратное подкожное введение поросётам 13 – 15-ти дневного возраста «Мелапол Плюс» по две гранулы (100 мг) с интервалом 39 сут способствует повышению прироста живой массы на 8,3% и сохранности животных.

4. Применение «Мелапол Плюс» поросётам сопровождается увеличением количества эритроцитов на 11,6%, общего белка – на 14,8%, нормализует естественную резистентность (лизоцимная активность сыворотки крови повышается на 36,0, фагоцитарная активность нейтрофилов – на 15,2, Т- лимфоцитов – на 16,2, В- лимфоцитов – на 30,7%), минеральный обмен и активность индикаторных ферментов (АСТ, АЛТ, ГГТ и амилазы) в сыворотке крови поросят.

5. Мясо, полученное от поросят, обработанных препаратом «Мелапол Плюс», по органолептическим, физико-химическим, бактериоскопическим показателям и биологической полноценности не отличается от такового у контрольных аналогов, и соответствует требованиям ГОСТов.

6. Применение «Мелапол Плюс» способствовало увеличению численности популяции ацидофильных эндокриноцитов аденогипофиза, стимулировало синтетические, регенераторные процессы в паренхиме печени, почек, селезенки. Наблюдаемые эффекты проявлялись в виде нормализации обменных процессов в организме, восстановления внутриорганной гемодинамики и формирования четкой зональной дифференцировки клеток паренхимы.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для профилактики стрессов, нормализации обменных процессов, иммунобиологического статуса, повышения сохранности и продуктивности поросят для внедрения в ветеринарную практику рекомендуется препарат «Мелапол Плюс» в виде двукратного введения по две гранулы в подкожную клетчатку внутренней поверхности бедра: первую инъекцию проводят поросятам сосунам 5-15 сут возраста, вторую – через 35-40 сут после первой.

2. Основные положения диссертационной работы рекомендуется использовать на курсах по повышению квалификации в ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» и учебном процессе в ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана».

6 СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Чурин, С.И. Параметры токсичности «Мелапол Плюс» / С.И. Чурин // Матер. научно-практ. конф. молодых ученых и специалистов «Актуальные проблемы ветеринарии». – Казань: ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2007. – С. 92-93;

2. Чурин, С.И. Определение токсичности препарата «Мелапол Плюс» / С.И. Чурин // Матер. научно-практ. конф. фармакологов РФ. – Троицк: УГАВМ, 2007. – С. 354-357;

3. Чурин, С.И. Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия препарата «Мелапол Плюс» / С.И. Чурин // Матер. междунар. научно-практ. конф.: «Актуальные вопросы аграрной науки и образования». – Ульяновск: УГСХА, 2008. – Т. 3. – С. 153-156;

4. Чурин, С.И. Влияние препарата «Мелапол Плюс» на картину крови и сохранность поросят / С.И. Чурин, Л.Н. Пунегова // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней животных и птиц. – Екатеринбург, 2008. – Вып. 2. – С. 542-545;
5. Чурин, С.И. Фармако-токсикологические свойства ветеринарных препаратов на основе мелатонина / Л.Н. Пунегова, И.Н. Давлетханов, С.И. Чурин и др., // Сб. тр. пятой научно-практ. конф.: «Высокие технологии, фундаментальные исследования, образование». - Санкт – Петербург, 2008. – Т. 13. – С. 296-298;
6. Чурин, С.И. Влияние препарата «Мелапол Плюс» на обменные процессы и сохранность поросят / К.Х. Папуниди, С.И. Чурин, Л.Н. Пунегова и др. // Ветеринарный врач. – 2008. - № 4. – С. 19-22;
7. Чурин, С.И. Биохимические и гематологические показатели крови поросят на фоне применения препарата «Мелапол Плюс» / А.В. Иванов, С.И. Чурин // Матер. междунар. научно-практ. конф.: «Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях». – Воронеж: изд-во «Исток», 2008. – С. 146-149;
8. Чурин, С.И. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса поросят при применении препарата «Мелапол Плюс» / Э.К. Папуниди, С.И. Чурин // Матер. междунар. научно-практ. конф.: «Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях». – Воронеж: изд-во «Исток», 2008. – С. 213-216;
9. Чурин, С.И. Определение алергенных и кумулятивных свойств препарата «Мелапол Плюс» / С.И. Чурин, К.Х. Папуниди. // Всеросс. научно-практ. конф. «Научный потенциал – аграрному производству». - Ижевск, 2008. – Т. 3. – С. 183-188;
10. Чурин, С.И. Морфологический статус поросят на фоне применения препарата «Мелапол Плюс» / С.И. Чурин // Матер. научно-практ. конф.: «Достижение молодых ученых - в производство». – Казань: ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2008. – С. 126-129;
11. Чурин, С.И. Влияние препарата «Мелапол Плюс» на обменные процессы и сохранность поросят / К.Х. Папуниди, С.И. Чурин, Э.К. Папуниди и др. // Матер. второго съезда ветер. фармакологов и токсикологов России: «Современные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологии». – Казань: ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2009. – Т.1. – С. 318-321;

12. Чурин, С.И. Исследования процесса биоразложения комплексных ветеринарных препаратов на основе мелатонина / Л.Н. Пунегова, Т.С. Шитова, С.И. Чурин и др. // Сб. тр. седьмой научно-практ. конф.: «Высокие технологии, фундаментальные исследования, образование». - Санкт – Петербург, 2009. – С. 285-291;

13. Чурин, С.И. Особенности биодеструкции ветеринарных имплантируемых препаратов в организме животных / Л.Н. Пунегова, Т.С. Шитова, С.И. Чурин и др. // Тез. докл. научно-практ. конф.: «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения». – Киев, 2009. - С. 391-392.

На правах рукописи

ЧУРИН СЕРГЕЙ ИВАНОВИЧ

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И ПРИМЕНЕНИЕ
«МЕЛАПОЛ ПЛЮС» В СВИНОВОДСТВЕ**

16.00.04. – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

*Отпечатано в ООО «Печатный двор»,
г. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207
Тел: 272-74-59, 541-76-41, 541-76-51.
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001 г.
Выдана Поволжским межрегиональным
территориальным управлением МПТР РФ.
Подписано в печать 03.08.2009г. Усл. п.л 1,4
Заказ № К-6725. Тираж 100 экз. Формат 60x84 1/16.
Бумага офсетная. Печать - ризография.*