

Scientific King Fisher, с 8 по 14 - ДНК из клеток лептоспир, выделенные с помощью тритона X-100, разработанного сотрудниками лаборатории протвобактериозной биотехнологии КазНАУ.

Выводы. Результаты качественного и количественного анализа показали, что при выделении ДНК из клеток лептоспир хорошие результаты дают использование автоматической станции выделения НК – Thermo Scientific King Fisher, метод обработки бактериосодержащей суспензии детергентом – 10% раствором додецилсульфата натрия в сочетании с протеиназой К, а также метод выделения ДНК из клеток лептоспир с помощью тритона X-100. Способы позволяют получить высокоочищенную хромосомную ДНК из клеток лептоспир в препаративном количестве, пригодную для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) и для клонирования.

Литература. Hernandez-Rodriguez P., C. A. Diaz, E. A. Dalmau, G. M. Quintero. 2011, A comparison between polymerase chain reaction (PCR) and traditional techniques for the diagnosis of leptospirosis in bovines. *J. Microbiol Met.*, 2011.- 84:1-7. 2. Vijayachari P., Sugunan A.P. Shriram A.N. Leptospirosis: an emerging global public health problem // *J. Biosci.* -2008. 33(4).- 557–569. 3. Киркимбаева Ж.С. Иммунопрофилактика лептоспироза сельскохозяйственных животных и пушных зверей: автореф. дисс. докт. вет. наук. –Алматы. -2004. -45с. 4. Малахов Ю.А., Панин А.Н., Соболева Г.Л. Лептоспироз сельскохозяйственных животных. - Москва, 2000. – 420 с. 5. Павленко А.Л. Особенности эпидемиологии лептоспироза на современном этапе// *Симферополь, Запорожский медицинский журнал.* - 2013. №6.- С. 63-69.

УДК 612.62:612.017.11

СОСТОЯНИЕ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПОТЕНЦИАЛА ФАГОЦИТОВ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ У КОШЕК

Желавский Н.Н., Шунин И.Н.

*Подольский государственный аграрно-технический университет,
г. Каменец-Подольский, Хмельницкая область, Украина*

Введение. Система иммунной защиты животных сформировалась в процессе длительного эволюционного развития [1, 2]. Со дня открытия феномена фагоцитоза И.И. Мечниковым уже прошло более века. Невзирая на это, ученые разных стран мира продолжают проводить всестороннее исследование клеточных факторов защиты иммунной защиты и изучение взаимодействия иммунокомпетентных клеток [3-5].

Система локальной иммунной защиты органов размножения животных имеет сложное онтогенетическое развитие, которое четко подчинено генетической детерминации и нейрогуморальным механизмам регуляции [6-9]. В современных научных изданиях все больше появляется данных о роли фагоцитов в индукции цитокинов, синтеза пептидов, медиаторов и других биологически активных веществ, которые принимают роль как при формировании иммунного гомеостаза, так и в запуске каскада воспалительной реакции [3, 5, 8, 10]. На сегодняшний день центральным объектом исследований являются механизмы реализации противомикробной защиты фагоцитарных клеток (эксекреция противомикробных соединений, формирование защитных ловушек и др.), а также изучение факторов регуляции функционального состояния фагоцитов [5, 8, 11, 12].

По данным многих исследователей возникновение и развитие репродуктивной патологии (вагинит, эндометрит, пиометра) часто возникают на фоне иммунологических нарушений [3, 7, 12, 15].

В связи с актуальностью проблемы целью нашей работы было исследовать функциональное состояние фагоцитарных клеток, а также изучить и интерпретировать роль их противомикробного потенциала в формировании гомеостаза в системе

локального иммунитета органов размножения у кошек.

Материалы и методы исследований. Клинико-экспериментальные исследования проводили на кошках с 2-летнего возраста разных пород. Лабораторные исследования проводили в специализированной лаборатории репродукции животных Подольского государственного аграрно-технического университета, основанной доктором биологических наук, профессором, член-корреспондентом НААН Украины В.А. Яблонским. При иммунологическом исследовании определяли клеточный состав и функциональное состояние фагоцитарных клеток. Цитохимическими исследованиями определяли состояние противомикробной реактивности кислородзависимого механизма защиты нейтрофильных гранулоцитов в реакции с нитросиним тетразолием (НСТ+) с использованием собственного запатентованного метода [11, 12]. При этом определяли общий процент реактивных фагоцитов (НСТ+), индекс активации фагоцитарной реактивности нейтрофилов (ИАН), цитологический индекс реактивности противомикробного потенциала клеток (ЦЛИ). При биометрической обработке массива данных использовали статистический софт Statistica v.10.

Результаты и обсуждение. Цитологическими исследованиями определено, что клеточный состав слизистой оболочки влагалища в стадию метэструса в основном представлен промежуточными (рисунок 1) и парабазальными эпителиальными клетками. В цитограмме микропрепарата общая доля нейтрофилов составляла $14,70 \pm 0,68\%$. При этом нейтрофильные гранулоциты локализовались одиночно или в группах и имели четко выраженное сегментоядерное ядро и цитоплазму (рисунок 2).



Рисунок 1 – Микрофото изображения. Промежуточная эпителиальная клетка (x 2500)

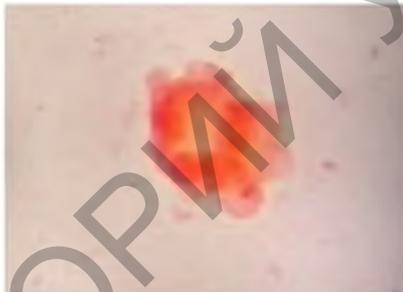


Рисунок 2 – Микрофото изображения. Нейтрофил слизистой оболочки влагалища (x 2500)

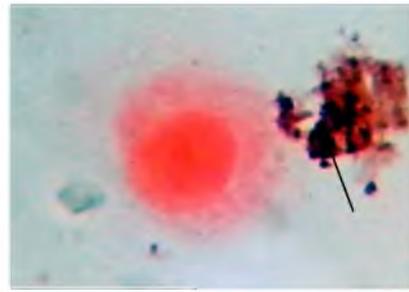


Рисунок 3 – Микрофото изображения. Метаболическая реактивность нейтрофильного гранулоцита (а) в реакции НСТ (x 2500)

Как известно, нейтрофильные гранулоциты способны активировать клеточное звено иммунной защиты (Th1, Th2), а также обеспечить координацию взаимодействия гуморального и клеточного звеньев иммунитета. Нейтрофилы в периферическом кровеносном русле находятся только 6-10 часов, а затем попадают в ткани, где и выполняют свою эффекторную функцию [12-15]. Праймированные фагоцитарные клетки способны уничтожать патогенных агентов при непосредственной атаке (киллинг) путем поглощения и переваривания. Фагоциты также способны реализовывать свою функцию с помощью активации метаболической реактивности с последующим экстрацеллюлярным выбросом противомикробных соединений. Такое явление в научной литературе получило название «респираторный взрыв» («*respiratory burst*»). При этом в фагоцитах происходит биохимическая активация гексозомонофосфатного шунта и фагосомальной НАДФ•Н-оксидазы. Эта метаболическая реакция происходит на фоне возрастающего (в десятки раз) потребления клеткой глюкозы и кислорода. НАДФ•Н-оксидаза преобразует O_2 - супероксидный анион (O_2^-). В дальнейшем, с участием супероксиддисмутазы образуются другие активные формы кислорода (H_2O_2 , $\cdot OH$, 1O_2 и др.), которые выбрасываются фагоцитом во внеклеточное пространство. Все это сопровождается запуском каскада

других иммунобиологических реакций: происходит активный синтез хемотаксических пептидов, индуцируется образование ИЛ и др. [1, 7, 15]. Цитохимическими исследованиями кислородзависимого механизма фагоцитарной защиты клеток слизистой оболочки в реакции нитросиним тетразолием определено, что фагоциты принимают активное участие в реализации противомикробной защиты. В цитоплазме реактивных фагоцитов четко визуализировались гранулы дифоразана.

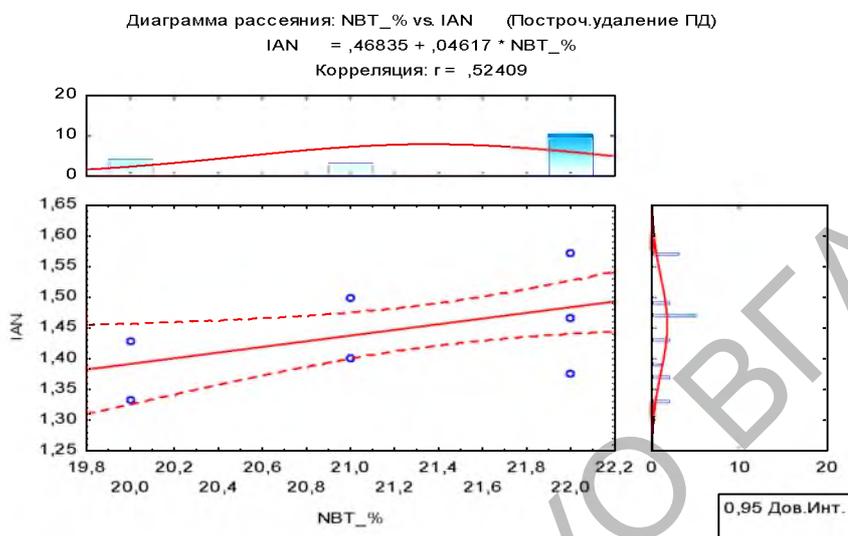


Рисунок 4 – Корреляционная связь ИАН и НСТ+

Общее количество НСТ + фагоцитарных клеток в исследованных микропрепаратах составило $21,35 \pm 0,86\%$ (рисунок 3). При этом также определено, что интенсивность противомикробного потенциала праймированных нейтрофилов в основном проявляется на I и II уровнях реактивности, что четко прослеживается на диаграмме (рисунок 4).

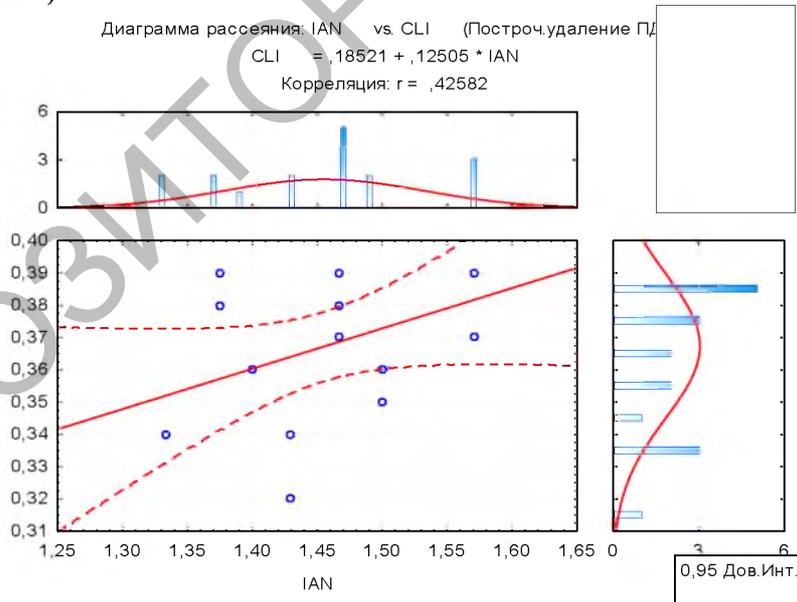


Рисунок 5 – Корреляционная связь между ЦЛИ и ИАН

Статистическими исследованиями также определена положительная корреляция (рисунок 5) между цитологическим индексом и количеством микрофагов с активированным цитохимическим (противомикробным) потенциалом. Все это указывает на частичное задействование фагоцитарных клеток и их неполную праймизацию.

В последнее время исследователей все больше привлекает внимание роль

фагоцитарных клеток в формировании микробиоценоза и регуляции клеточного гомеостаза [15-19]. В наших опытах часто были идентифицированы реактивные фагоцитарные клетки, которые осуществляли адгезию эпителиоцитов и апоптозных нейтрофилов. Предполагаем, что фагоциты принимают участие не только в противомикробной защите, а также в формировании клеточного гомеостаза слизистых оболочек и тканей. Этот феномен подводит нас к гипотезе, что функциональное состояние эпителиальных клеток и нейтрофилов, а также регуляция их апоптоза может происходить под воздействием иммунокомпетентных клеток (под воздействием противомикробных соединений, пептидов, медиаторов и других биологически активных соединений), что будет последующим этапом наших исследований.

Выводы. Таким образом, можно сделать вывод, что в цитограмме слизистой оболочки влагалища кошек в период метэструса в основном преобладают промежуточные и парабазальные эпителиальные клетки. Клеточное звено локальной защиты неспецифического иммунитета представлено фагоцитами. Общее количество нейтрофилов в цитограмме составляет $14,70 \pm 0,68\%$. Интенсивность противомикробного потенциала кислородзависимого механизма защиты нейтрофилов проявляется на I и II уровнях цитохимической реактивности. Цитохимические исследования рекомендуются проводить при комплексном тестировании локальной иммунной системы органов размножения животных, что даст возможность объективно оценить состояние клеточного звена иммунитета, диагностировать субклинические проявления репродуктивной патологии и прогнозировать риск возникновения осложнений.

Литература. 1. Michael, J. *Clinical Immunology of the Dog and Cat / Revised And Updated J Michael.* – Day Second Edition Copyright: Manson Publishing Ltd, 2012. – 449 p. 2. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології [Яблонський В. А., Хомин С. П., Капиновський Г. М., Харута Г. Г., Харенко М. І., Завірюха В. І., Любецький В. Й.]; за ред. В. А. Яблонського та С. П. Хомина : підруч. [для підготовки фахівців навч. закл. III-IV рівнів акредитації]. – Вінниця : Нова книга, 2006. – 592 с. 3. Ignacio, G. Toll-like receptor expression in feline lymphoid tissues / G. Ignacio, S. Nordone, K. E Howard [et all.] // *Veterinary Immunology and Immunopathology.* – 2005. – Vol. 106. – P. 229-237. 4. Kjelgaard-Hansen, M. Measurement of serum interleukin-10 in the dog / M. Kjelgaard-Hansen, M. Luntang-Jensen, J. Willesen [et all.]. // *Veterinary Journal.* – 2007. – Vol. 173 – P. 361–365. 5. Jursza-Piotrowska, E. Siemieniuch Identifying diagnostic endocrine markers and changes in endometrial gene expressions during pyometra in cats / E. Jursza-Piotrowska, J. Marta // *Reprod Biol.* – 2016. – N 8. – Vol. 16(2). – P. 174-180. 6. Кузьмич, Р. Г. Клиническое акушерство и гинекология животных / Р. Г. Кузьмич. – Витебск. – 2002. – 313 с. 7. Jursza-Piotrowska, E. Prostaglandin release by cultured endometrial tissues after challenge with lipopolysaccharide and tumor necrosis factor α , in relation to the estrous cycle, treatment with medroxyprogesterone acetate, and pyometra / E. Jursza-Piotrowska, P. Socha, Dariusz Jan Skarzynski [et all.] // *Theriogenology.* – 2016. – N 10. – Vol. 85(6). – P. 1177-1185. 8. Jursza-Piotrowska, E. Siemieniuch Identifying diagnostic endocrine markers and changes in endometrial gene expressions during pyometra in cats / E. Jursza-Piotrowska, J. Marta // *Reprod Biol.* – 2016. – N 8. – Vol. 16(2). – P. 174-180. 9. William, A. Commensal Bacteria Modulate Immature Immune Responses of Vaginal Epithelial Cell Multilayer Cultures / A. William, I. I. Rose, C. L. McGowin [et all.] [electron reassures] <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0032728> 10. Zhelavskiy, M. Cell factors' condition of local immunity of vaginas mucosa in cats / M. Zhelavskiy, I. Shunin // *Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytskyj.* – 2016. – N 1. – Vol. 18. – P. 32-36. 11. Спосіб оцінювання локального імунітету статевих органів у тварин: пат. 109040 Україна. № 201601190; винахідники та власники Желавський Микола Миколайович, Шунін Ігор Микитович ; заявл. 11.02.2016 ; опубл. 10.08.2016, Бюл. № 15. 12. Желавський, М. М. Особливості системного та локального імунітету у період вагітності : методичні вказівки. Подільський державний аграрно-технічний університет. – Кам'янець-Подільський, 2016. – С. 22. 13. Batista-Arteaga, M. Segmental atresia of the uterus associated with hydrometra in a ferret / M. Batista-Arteaga, D. Alamo, P. Herraes [et all.] // *Vet. Rec.* – 2007. – Vol. 161. – P. 759-760. 14. Fontbonne, A. Hyperplasie glandulokystique/pyomètre Guide pratique de reproduction canine et féline / A. Fontbonne, X. Levy, E. Fontaine, C. Gilson – Paris, MED'COM, 2007. – 272 p. 15. Payan-Carreira, R. Oestrogen receptors in a case of hydrometra in a bitch / R. Payan-Carreira, J. Pina, M. Costa [et all.] // *Vet. Rec.* – 2015. – Vol. 158. – P. 487-489. 16. Pena, F. J. Endometrial Adenocarcinoma and Mucometra in a 6-year-old

Alaska Malamute Dog / F. J. Pena, J. A. Gines, J. DUQUE [et all.] // Reprod. Dom. Anim. – 2006. – Vol. 41. – P. 189-190. 17. Pretzer, S. D. *Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review / S. D. Pretzer // Theriogenology. – 2008. – Vol. 70. – P. 359-363.* 18. Кузьмич, Р. Г. Гиперплазия эндометрия и пиометра у сук : монография / Р. Г. Кузьмич, С. В. Мирончик ; Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины". – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 214 с. 19. Желавський, М. М. Перспективи дослідження клітинних факторів локального імунітету слизових оболонок статевих органів кішок / М. М. Желавський, І. М. Шунін // Збірник матеріалів XV Міжнародної науково-практичної конференції професорсько-викладацького складу та аспірантів «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва» факультету ветеринарної медицини. – К. : НУБІП України, 2016. – С. 36-37.

УДК 68.41.05

АНАЛИЗ АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ У ИМПОРТНОГО КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ибишов Д.Ф., Поносов С.В.

ФКОУ ВО «Пермский институт ФСИН России», г. Пермь, Россия

Введение. Продовольственная безопасность каждого государства всегда была в приоритете. В рамках развития отечественного животноводства решаются различные варианты снабжения населения качественной продукцией сельского хозяйства – молоком, мясом, яйцом в достаточно больших количествах для покрытия нужд населения, таким образом осуществляется профилактика возникновения пищевых заболеваний [1]. С целью повышения молочной продуктивности коров как в стране в целом, так и в Пермском крае, был выбран импорт крупного рогатого скота голштинской породы [2]. Голштинский крупный рогатый скот завозился на территорию страны в течение продолжительного периода времени. Прогрессивное использование возможностей молочной продуктивности позволило достичь весомых результатов в ряде регионов, чей опыт был положен в основу дальнейшей голштинизации скота. Ряд авторов проводили длительные исследования по изучению адаптационных способностей, селекции КРС, кормления его на территории России [3, 4].

С течением времени изменяется антропогенное воздействие человека на сельскохозяйственные угодья и подчас не самым благоприятным образом [4, 5, 6]. Донник И.М., Верещак Н.А., Ибишов Д.Ф. доказали возможность накопления и поступления в рационы крупного рогатого скота выбросов тяжелых металлов и других поллютантов, аккумуляирование которых в совокупности с интенсификацией сельского хозяйства приводит к ухудшению здоровья, плодовитости и продуктивности крупного рогатого скота [6, 7, 12]. Тем более прослеживается прямая взаимосвязь перехода некоторых элементов по цепочке земля - корм - мясо - человек [8, 9].

В связи со значительной стоимостью племенного поголовья, затратами на его транспортировку и выращивание появляется необходимость более тщательного изучения адаптационных возможностей крупного рогатого скота применительно к данным условиям кормления и содержания.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования являлись нетели голштино-фризской породы, стельностью 4-6 месяцев, завезенные из Германии. Для изучения адаптационных процессов импортированных нетелей было отобрано 27 животных. Отбор крови производили из яремной вены до утреннего кормления.

Взятие крови проводили одновременно с клиническим обследованием животных. Сыворотку крови получали выдерживанием крови в течение 1 часа в термостате при температуре 37°C с последующим отделением свернувшейся крови от