

ло значительное уменьшение количества миелобластических клеток в группе иммунных гусят, преимущественно за счет клеток псевдозозинофильного и эозинофильного ряда, что является свидетельством затухания микрофагальной реакции. В 1-й группе птиц отмечено значительное увеличение (до $51,4 \pm 1,30\%$) количества клеток эритробластического ряда и нормализация данного показателя по сравнению с контролем. Это свидетельствует об активной пролиферации клеток красного ростка костного мозга у вакцинированной птицы.

Изучение пунктата костного мозга в 3-м опыте показало, что на 14-й день после вакцинации в миелограмме подопытного молодняка кур отмечалось некоторое увеличение числа клеток миелобластического ряда до $29,0 \pm 1,35\%$ (в контроле - $26,3 \pm 2,30\%$; $P > 0,05$) с одновременным снижением содержания эритробластических клеток до $49,6 \pm 2,90\%$ (в контроле - $57,3 \pm 2,24$; $P > 0,05$). Количество плазмочитов достоверно возросло по сравнению с контролем в 5,5 раза (с $0,6 \pm 0,11\%$ до $3,0 \pm 0,56\%$; $P < 0,05$).

Парциальные формулы костномозговых клеток птиц 1-ой группы характеризовались возрастанием

по сравнению с контролем лейкоэритробластического индекса (на 12%; $P > 0,05$) и костномозгового индекса созревания эозинофилов (в 1,7 раза; $P > 0,05$), а также снижением костномозгового индекса созревания псевдозозинофилов (на 17%; $P > 0,05$).

Заключение. Представленные в работе материалы позволяют исследователям оптимизировать получение качественного пунктата костного мозга для дальнейшего изучения. Анализ миелограммы птиц позволяет установить закономерности иммунорфмологической перестройки костного мозга при вакцинации, которые характеризуются увеличением количества клеток всех рядов миелоидного ростка, гиперплазией клеток тромбоцитарного ростка, увеличением лейкоэритробластического и индекса созревания эозинофилов.

Литература: 1. Болотников И.А., Соловьев Ю.В. Гематология птиц. – Л.: Наука, 1980. – С. 66-89. 2. Карпуть И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. – Мн.: Ураджай, 1986. – С. 16. 3. Коленкин С.М., Михеева А.И. Основные правила исследования пунктата костного мозга // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. - №2. – С.41-43.

УДК 619: 616. 98: 579. 843. 95: 636. 598: 612. 015

АКТИВНОСТЬ КИСЛОЙ И ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗ У ГУСЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА С ПРИМЕНЕНИЕМ НАТРИЯ ТИОСУЛЬФАТА

Радченко С.Л., Никандров В.Н., Громова Л.Н., Шоломицкий Д.В.
УО "Витебская государственная академия ветеринарной медицины"

Пастереллез (холера) птиц – широко распространенная инфекционная болезнь птиц, которая наносит большой экономический ущерб птицеводческим хозяйствам. В комплексе мероприятий по предупреждению пастереллеза птиц ведущее место занимает вакцинопрофилактика. В РНИУП "ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН РБ" разработана жидкая инактивированная эмульсин-вакцина против пастереллеза птиц из шт. "КМИЭВ-26, 27, 28". При этом биохимические реакции в органах иммунной системы гусей, привитых данной вакциной, мало изучены. Ряд исследователей для усиления иммуногенных свойств вакцин рекомендуют применять иммуностимуляторы [1,2], однако их влияние на биохимические аспекты формирования поствакцинального иммунитета изучено недостаточно.

Известно, что клетки иммунной системы птиц обладают высокой фосфатазной активностью. В-лимфоциты (заселяющие бурсу Фабрициуса птиц и В-зависимые зоны периферических органов иммунитета) обладают высокой активностью щелочной фосфатазы, а Т-лимфоциты (заселяющие тимус и Т-зависимые зоны периферических органов иммунной системы) и макрофаги - высокой активностью кислой фосфатазы. Щелочная фосфатаза (ЩФ) – фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты (К.Ф. 3.1.3.1.) - гидролизует разные синтетические субстраты при оптимальном рН 10,0: при физиологических условиях фермент может использовать

различные субстраты [5]. Кислая фосфатаза (КФ) – фосфомоноэстераза II - проявляет оптимальное действие при рН=4,6 (К.Ф. 3.1.3.2.). ЩФ является гликопротеидом, по структуре это димер с кажущейся значительной вариацией молекулярной массы фермента в разных тканях [6]. ЩФ - металлофермент, в состав его активного центра входит атом цинка. Полагают, что атом цинка повышает активность фермента, обеспечивая конформационные изменения и гидролиз моноэфиров ортофосфорной кислоты [7]. Каждый мономер содержит три металло-связывающих центра. Лишенный ионов цинка фермент теряет активность, но восстанавливает ее после добавления металла [4]. При рН 9,5 и избытке ионов Zn^{+2} образуется тетрамер. Каждая субъединица имеет большой a/b домен, имеющий b-структуру, окруженную a-спиралью, и малый домен спиралевидной структуры [8]. Установлено, что только 2 атома цинка определяют каталитическую активность фермента, а 2 других необходимы для поддержания его структуры [9].

Активность фермента возрастает в присутствии ионов магния, для оптимальной активности необходимо адекватное соотношение ионов магния и цинка [5].

Существует теория, которая сводит эти реакции к частному случаю трансферазных реакций. Процессы гидролиза могут рассматриваться как перенос части молекулы субстрата к гидроксильной

группе воды. Этим объясняется действие ЩФ в качестве трансферазы, которая переносит освобождающийся фосфорный остаток на молекулу акцептора. Субстратами ЩФ являются различные моноэфиры фосфорной кислоты (ROH), как алифатические (глицерол-1-фосфат, глицерол-2-фосфат), так и ароматические (4-нитрофенилфосфат), аминокислоты, углеводы, нуклеотиды и белки.

Предполагается, что фермент участвует в транспорте фосфата и обеспечивает его образование там, где возникает потребность в нем [10].

Учитывая взаимосвязь активности фосфатаз с процессами иммуногенеза, нами была поставлена задача изучить динамику их активности в органах иммунной системы гусят (тимусе, бурсе Фабрициуса, селезенке и железе Гардера) при иммунизации против пастереллеза инактивированной вакциной из шт. "КМИЭВ-26, 27, 28" (БелНИИЭВ) с использованием натрия тиосульфата. Натрия тиосульфат, являясь производным тиосерной кислоты, обладает выраженными антиоксидантными свойствами. Механизм действия натрия тиосульфата обусловлен наличием в его молекуле серы в степени окисления -2 (S^{2-}), восстанавливающей группы $-S-H$ третичной структуры белков, в том числе и ферментов, препятствуя их денатурации.

Натрия тиосульфат стимулирует функцию макрофагов, Т-хелперов, оказывая положительное влияние на выработку иммунитета против инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии. Кроме того, наличие в молекуле натрия тиосульфата атомов серы в степени окисления -2 , выступающих в роли восстановителя, обуславливает также антиоксидантное и противовоспалительное действие препарата. Именно поэтому введение натрия тиосульфата совместно с вакцинами снижает их реактогенность.

Исследования были проведены на 45 гусятах 16-37-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов и разделенных на 3 группы, по 15 птиц в каждой.

Интактная птица 1-ой группы служила контролем.

Гусят 2-ой группы иммунизировали жидкой инактивированной вакциной против пастереллеза птиц согласно временному наставлению по ее применению, однократно, подкожно, в дозе 0,5 мл (без иммуностимулятора).

Птице 3-й группы вакцину вводили совместно с иммуностимулятором 7%-ным водным раствором натрия тиосульфата. Иммунизацию птиц опытных групп проводили в 16-дневном возрасте.

На 7-ой, 14-й и 21-й дни после вакцинации по 5 гусят из каждой группы убивали. Из органов иммунной системы (тимус, бурса Фабрициуса, селезенка, железа Гардера) готовили 4%-ные гомогенаты на трис-сахарозном буфере (РН-7,3). Активность щелочной фосфатазы в органах иммунной системы гусят определяли способом Бодански. Метод основан на ферментативном гидролизе бета-глицерофосфата. Освобожденный фосфат, реагируя с фосфомолибденовой кислотой, дает желтый комплекс, который при действии восстановителя трансформируется в фосфомолибденовую синь. Учет реакции производили путем фотометрии раствора при длине волны 620-640 нм. Данный метод позволяет одновременно вести определение активности щелочной и кислой фосфатаз (КФ и ЩФ).

Наши исследования показали, что наиболее высокая активность щелочной фосфатазы отмечалась в бурсе Фабрициуса. У гусят контрольной группы в течение всего срока исследования активность ЩФ составляла $2,23 \pm 0,27 - 2,75 \pm 0,31$ МЕ/г.

На 7-е сутки эксперимента данный показатель у птиц 2-й группы превышал контрольные значения в 1,6 раза ($P < 0,05$), а у птиц 3-й группы в 2 раза ($P < 0,05$). На 14-й день после вакцинации у птиц 2-й и 3-й групп активность ЩФ была выше, чем в контроле, соответственно в 2 и 2,1 раза ($P < 0,05$). На 21 день опыта у иммунизированных гусят 2-й группы сохранялась тенденция к повышению активности ЩФ (рис. 1).

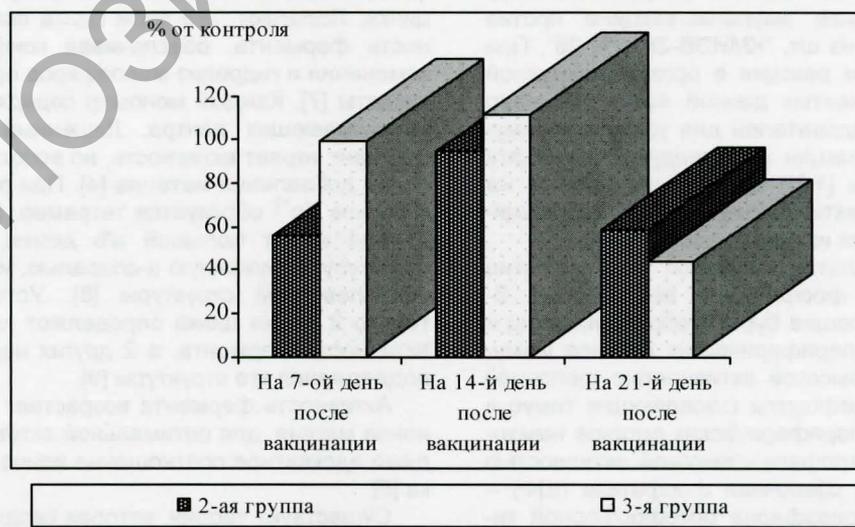


Рис. 1. Активность щелочной фосфатазы в бурсе Фабрициуса вакцинированных гусят (в процентах от контроля)

Увеличение активности ЩФ в бурсе вакцинированных гусят может указывать на усиление выработки В-лимфоцитов, необходимых для формирования гуморального иммунитета.

В селезенке контрольных гусят активность ЩФ на 7-й день эксперимента составила $1,29 \pm 0,08$ МЕ/г. У иммунных птиц 2-й и 3-й групп отмечалось увеличение данного показателя в 1,5 и 1,6 раза ($P < 0,05$) по сравнению с контролем. К 14-у дню опыта активность фермента была выше у иммунизированных птиц обеих групп в 2,3-3 раза ($P < 0,01$). На 21-е сутки эта тенденция сохранялась.

В железе Гардера иммунных птиц 2-й и 3-й групп на 7-й день после вакцинации отмечалось достоверное повышение активности ЩФ по сравнению с контролем в 1,8 – 2 раза, а на 14-й день – в 1,4 и в 2 раза ($P_{1-2} < 0,05$; $P_{1-3} < 0,01$) соответственно. На 21-й день опыта в железе Гардера у птиц 2-й группы активность ЩФ превышала контрольное значение в 2,5 раза ($P_{1-2} < 0,001$).

На 7-й день эксперимента активность кислой фосфатазы в тимусе интактных гусят 1-ой группы была на уровне $2,32 \pm 0,29$ МЕ/г. У иммунных птиц 2-ой и 3-й групп данный показатель был выше, чем в контроле, соответственно в 1,6 ($P_{1-2} < 0,05$) и 2,3 ($P_{1-3} < 0,01$) раза. Это, вероятно, указывает на увеличение выработки Т-лимфоцитов, маркером которых является КФ.

На 14-й день активность КФ в тимусе птиц 1-3-й групп существенно не изменялась по сравнению с предыдущим сроком исследования. При этом у птиц 3-й группы указанный показатель превышал контрольные значения в 1,8 раза ($P_{1-3} < 0,01$). На 21-й день опыта наблюдалось выравнивание данного показателя и статистически достоверных различий между группами не обнаружено.

В селезенке гусят контрольной группы на 7-й день после вакцинации активность КФ составляла $2,93 \pm 0,31$ МЕ/г. У иммунных птиц 2-й и 3-й групп данный показатель был выше, чем в контроле, в 2,4 раза ($P < 0,01$). Повышение активности КФ в селезенке привитых утят указывает на возможное увеличение количества Т-лимфоцитов, обеспечивающих реакции клеточного иммунитета.

На 14-й день эксперимента активность КФ в селезенке контрольных гусят возросла по сравнению с предыдущим сроком исследования в 1,5 раза ($4,35 \pm 0,37$ МЕ/г) и оставалась на таком уровне до конца исследования. Вместе с тем, у вакцинированной птицы 2-й группы произошло снижение данного показателя в 1,5 раза ($P < 0,05$). Снижение активности КФ в селезенке привитых птиц свидетельствует, вероятно, о затухании реакций клеточного иммунитета в эти сроки.

На 21-й день у птиц 2-й и 3 групп данный показатель статистически достоверно не отличался от контроля.

В железе Гардера 8-дневных гусят контрольной группы (на 7-й день опыта) активность КФ составляла $3,00 \pm 0,26$ МЕ/г. У вакцинированных птиц 2-й группы данный показатель повысился по отношению контролю в 1,3 раза ($P < 0,05$). К 14-у дню эксперимента активность ЩФ у непривитой птицы не изменялась по сравнению с предыдущим сроком, а

у птиц 2 и 3-й групп происходило увеличение активности по отношению к контролю в 1,6-2 раза ($P < 0,01$) в эти сроки.

На 21-й день после вакцинации в железе Гардера у птиц, иммунизированных с применением натрия тиосульфата, активность КФ превышала контрольное значение в 1,43 ($P < 0,05$).

Полученные данные находят подтверждение в литературе. Вакцинация ремонтного молодняка кур против ньюкаслской болезни вызывала достоверное повышение активности фосфатаз тимуса, селезенки и сыворотки крови. Активность КФ в тимусе иммунных птиц повышалась на 30% по сравнению с контролем. В селезенке регистрировалось одновременное повышение активности ЩФ и КФ на 12-20% [3].

Громова Л.Н. в своих исследованиях отмечала увеличение активности КФ и ЩФ в тимусе, бурсе Фабрициуса, селезенке и железе Гардера гусят, вакцинированных против вирусного гепатита [4].

По данным Печниковой И.В. с соавторами, в сыворотке крови морских свинок, вакцинированных против чумы, активность кислой фосфатазы возрастала в 25-30 раз при иммунизации штаммом "К-1" и в 10-12 раз – штаммом "ЕВ". При этом активность щелочной фосфатазы повышалась в 8-10 раз. К 30 суткам активность фосфатаз полностью восстанавливалась [11].

Заключение

Иммунизация гусят против пастереллеза инактивированной вакциной шт. "КМИЭВ-26, 27, 28" вызывает увеличение активности кислой и щелочной фосфатаз в тимусе, бурсе Фабрициуса, селезенке и железе Гардера. Поскольку ЩФ является маркером В-лимфоцитов, а КФ – Т-лимфоцитов, повышение активности данных ферментов может косвенно указывать на увеличение числа Т- и В-лимфоцитов, обеспечивающих реакции клеточного и гуморального иммунитета. Кроме того, усиление процессов дефосфорилирования может свидетельствовать о напряженности метаболических процессов в центральных и периферических органах иммунной системы вакцинированных утят. Применение иммуностимулятора натрия тиосульфата способствует большему возрастанию фосфатазной активности и, следовательно, более высокой напряженности обменных процессов.

Литература: 1. Бирман Б.Я., Громов И.Н. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц. – Мн.: Бизнесофсет, 2004. – 102 с. 2. Большакова Е.И. Применение натрия тиосульфата в качестве иммуностимулятора при иммунизации свиней против сальмонеллеза // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 1998. – Т. 34. – С. 109-110. 3. Активность кислой и щелочной фосфатаз у ремонтного молодняка кур в период вакцинации против болезни Гамборо с использованием иммуностимулятора натрия тиосульфата / И.Н. Громов, В.С. Прудников, В.И. Гидранович, Д.С. Голубев // Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. – Витебск, 1998. – Т. 34. – С. 120-122. 4. Громова Л.Н. Биохимический мониторинг утят, вакцинированных против энтеровирусного гепатита: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.04 / ВГАВМ. – Витебск. – 2005. – 21с. 5. Творогова М.Г., Титов В.Н. Щелочная фосфатаза: методические приемы определения и диагностическое значение // Лабо-

раторная дело. – 1991. – № 6. – С. 10-17. 6. Meyer-Sabellek W., Sinha P., Kottgen E. Alkaline phosphatase. Laboratory and clinical implications // J. Chromatogr. – 1989. – Vol. 429. – P. 419-444. 7. Gettins P., Metzler M., Coleman J. Alkaline phosphatase. 31 P NMR probes of the mechanism // J. boil. Chem. – 1985. – Vol. 259. – P. 4994-4997. 8. Besman M., Coleman J.E. Isozymes of bovine intestinal alkaline phosphatase // J. boil. Chem. – 1985. – Vol. 260. – P. 1190-1193, 2875-2883. 9. Otvos J.P., Armitage J.M. Determination by cadmium-113 nuclear magnetic resonance of the

structural basis for metal ion dependent anticooperativity in alkaline phosphatase // Biochemistry. – 1980. – Vol. 19. – P. 4021-4024. 10. Ehle H., Muller E., Horn A. Alkaline phosphatase of the calf intestine hydrolyzes phospholipids // FEBS Letters. – 1985. – Vol. 183. – P. 2-7. 11. Печникова И.В., Харькова Н.М., Тинкер А.И. Изменение активности в организме подопытных животных, привитых вакцинами ЕВ и К-1, приготовленными на различных средах высушивания // Иммунология и иммунопрофилактика чумы и холеры. – Саратов, 1980. – С. 85-87.

УДК 636.934:611.735

НЕКОТОРЫЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ МУСКУЛАТУРЫ ЛИСИЦЫ И НОРКИ В СВЯЗИ С ИХ ФИЗИОЛОГИЕЙ И ОБРАЗОМ ЖИЗНИ

Ревякин И.М.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Лисица и норка, являясь представителями одного отряда (Carnivora), относятся к разным семействам – псовым (*Canidae*) и куньим (*Mustelidae*). При этом куньи принадлежат инфраотряду Arctoidea, довольно сильно обособившемуся от псовых и эволюционно ближе к группе циветт (3). Видимо, поэтому у представителей этого семейства уровень основного обмена веществ на 10% выше, чем теоретически можно ожидать у других млекопитающих (в том числе псовых) с такой же массой тела (1). К этому следует добавить, что масса норки в несколько раз меньше массы лисицы. Следовательно, скорость основного обмена веществ, согласно уравнению $M=KW^{0.75}$ (где M – скорость основного обмена (ккал/ч), W – масса тела (г.) и K – постоянная), у этого животного по сравнению с лисицей, еще выше (6).

Существенные различия между рассматриваемыми видами отмечаются и в способе их локомоции. Так, лисица – это типичное пальцеходящее животное, в основе перемещений которого лежит поступательное движение, выражающиеся в шаге, галопе или карьере. Норка же – животное стопоходящее. По суше она передвигается быстро, прыжками и лишь при замедлении движения переходит на шаг. Кроме этого, норка в отличие от лисицы истинно сухопутного вида, ведет околководный образ жизни, хорошо плавает и ныряет (4).

Перечисленные выше особенности происхождения, физиологии, анатомии, и экологии, на наш взгляд, неминуемо должны отразиться на строении дыхательной мускулатуры, которая является одним из наиболее важных компонентов в системе органов респираторной моторики. Между тем работ, посвященных этой тематике в целом, крайне мало. Исследования же, касающиеся конкретных видов, и вовсе ограничиваются единичными работами Н.А.Слесаренко. В связи с этим мы предприняли попытку восполнить существующий пробел и дать некоторую морфофункциональную характеристику особенностям респираторной мускулатуры лисицы и норки.

В отличие от лисицы, норка, находясь в водной среде, испытывает ее давление на реберную стен-

ку, которое в процессе дыхательных движений вынуждена преодолевать. Успешному выполнению этой задачи способствует то, что респираторная и вспомогательная мускулатура норки, в отличие от таковой лисицы, не оставляя свободного пространства над межреберными мышцами на грудной стенке, тесно соприкасаясь и переплетаясь, покрывает целиком всю грудную клетку, образуя тем самым единый мышечный пласт.

Кроме того, процесс нахождения под водой связан с задержкой дыхания, что неминуемо должно привести к усилению инспираторных мышц. Однако особенности закрепления и строения у норки главной из этой группы мышц – диафрагмы, позволяют усомниться в «силе» этого органа. Так диафрагма лисицы на реберной стенке имеет пять областей закрепления: на 9-ом (последнем стернальном) и на всех астернальных ребрах (10, 11, 12, 13). У норки же область закрепления ограничивается только астернальными ребрами (10-14). Связь со стернальным ребром, хотя и имеет место, встречается относительно редко и зачастую носит ассиметричный характер. Средняя ширина закрепления к ребрам, у обоих видов практически равна и соответствует 8,49(±0,31)% для лисицы и 9,50(±0,43)% для норки. Разница в 1,01% отчасти объясняется тем, что диафрагма норки в некоторых случаях, имеет двойное или даже тройное закрепление к одному ребру, что неотвратимо приводит к увеличению общей ширины. Однако данная особенность закрепления не имеет, сколь-нибудь выраженной закономерности и так же, как и связь с 9-м ребром, часто ассиметрична.

Высота реберного закрепления диафрагмы (расстояние от вертебральных концов ребер до вентральной границы площади закрепления на ребре) у лисицы и норки существенно не различается. В первом случае ее значения лежат на уровне 77,16(±1,27), а во втором – 80,36(±1,39)%. Все же, несмотря на этот факт, диафрагма норки находится в ином биодинамическом положении, причины которого кроются в особенностях длины реберных хрящей. Так средний уровень вентральной границы реберного закрепления диафрагмы у лисицы, жи-