

У печінці хворих свиней був зафіксований початковий етап розвитку токсичної дистрофії, гостра венозна гіперемія, розлади мікрогемодинаміки та деструкція печінкових балок у периферичних частках печінки. Проліферація сполучнотканинної сітки печінки під впливом екзоантигенів гельмінтів стала супутньою ознакою зниження її регенеративної здатності. Цей процес супроводжувався ушкодженням паренхіми та атрофією гепатоцитів.

Висновки. Сумісне паразитування аскарисів і езофагостом в організмі свиней спричинює розвиток значних патологічних уражень кишечника та печінки, що проявляється суттєвими структурними змінами цих органів.

Плануємо здійснити комплекс гістохімічних методів дослідження уражених тканин у свиней за змішаних нематодозних інвазій.

Список літератури

1. Бекиш, В.Я. Мигрирующие личинки аскарид и их метаболиты как мутагены [Текст] / В.Я. Бекиш // Сб. науч. тр. IV съезда врачей-инфекционистов РБ. – Витебск, 1997. – С. 21–22.
2. Потоцький М. Аскариоз (аскаридоз) свиней [Текст] / М. Потоцький // Вет. медицина України. – 2003. – № 3. – С. 24–26.
3. Євстаф'єва, В.О. Патоморфологічні зміни в організмі свиней, хворих на асоціацію аскарисів, езофагостом, еймерій та балантидій [Текст] / В.О. Євстаф'єва // Вісн. ЖНАЕУ. – № 1 (32), т. 3, ч. 2. – Житомир, 2012. – С. 61–65.
4. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин [Текст] / В.Ф. Галат, [та ін.]. – К. : Вища освіта, 2004. – С. 13–14.
5. Горальський, Л.П. Основи гістологічної техніки і морфологічних методів дослідження у нормі та при патології [Текст] : навч. посібник / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2005. – 288 с.
6. Вершигора А.Е. Основы иммунологии: руководство [Текст] / А.Е. Вершигора. – 2-е изд. – К. : Вища школа, 1980. – 504 с.

PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE ORGANISM OF PIGS, DISEASED WITH MIXED NEMATODOSIS

Feschenko D.V.

Zhytomyr National Agroecology University, Zhytomyr

The results of the researches of pathomorphological changes in bowels and liver of pigs at mixed ascariasis and ezofagostomosis invasion are presented. It becomes firmly established that over the joint parasitizing of the indicated eelworms brings to development of expressed macro- and microstructure changes in tissues of liver, duodenum and colon.

УДК 616.61-008.64:616-0929:616.633.455.623

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН І ГІСТОСТРУКТУРА НИРОК У МИШЕЙ ІЗ МОДЕЛЛЮ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ ПІД ВПЛИВОМ ДІАКАМФУ ТА ЕНАЛАПРИЛАТУ

Штриголь В.С., Куцан О.Т., Шутченко П.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Мерзлікін С.І.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Цукровий діабет (ЦД) – широко розповсюджене захворювання не тільки людей, але й тварин [5, 9, 10]. У гуманній медицині вдосконаленню лікування ЦД та його ускладнень приділяється значна увага [6], проте у ветеринарній медицині України стан допомоги тваринам із цим захворюванням навряд чи можна визнати задовільним. Тому пошук нових засобів лікування ЦД є актуальним завданням ветеринарної фармакології. Оригінальний протидіабетичний засіб діакамф – (±)-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентан-карбонова кислота [3] – дозволено до застосування як протидіабетичний препарат (реєстраційне посвідчення №UA/3130/01/01). Виходячи з багатьох спільних рис ЦД людей і тварин, можна вважати, що його впровадження у ветеринарну медицину сприяло б покращенню лікування ЦД і його ускладнень. Ураження нирок є однією з основних причин смертності при ЦД [2].

Мета даного дослідження – з'ясувати вплив діакамфу на перебіг алоксанового ЦД у мишей та з'ясувати його вплив на структурно-функціональний стан нирок за діабетичної нефропатії.

Матеріали та методи дослідження. ЦД моделювали у білих мишей самців масою 15–20 г внутрішньочеревинним введенням алоксану в дозі 200 мг/кг [4, 8]. Через 30 хв починали введення діакамфу в гіпоглікемічній дозі 25 мг/кг [3] у шлунок у вигляді суспензії із твіном-80 (0,1 мл на 10 г маси тварини), яке тривало 3 тижні. Одночасно внутрішньочеревинно вводили 0,9 % розчин NaCl. Препаратом порівняння обрано еналаприлат (ЕНАП, КРКА, Словенія) внутрішньочеревинно в дозі 2,5 мг/кг [7] у такому ж режимі (у шлунок – відстояна водопровідна вода для забезпечення однакових умов досліді). Еналаприлат є фармакологічно активним метаболітом еналаприлу – інгібітору ангіотензинперетворювального ферменту, одного з основних нефропротекторів при ЦД [2]. Мишам групи контрольної патології (КП) та інтактного контролю (ІК) щодня вводили у шлунок воду та внутрішньочеревинно – ізотонічний розчин NaCl. Через 3 тижні визначали виживаність і видільну функцію нирок (у групі КП через високу летальність – двічі з інтервалом 1 доба). У шлунок вводили воду (5 % від маси тіла) та збирали сечу в обмінних клітках протягом 2 год. Далі тварин декапітували (наркоз – етамінал-натрій, 40 мг/кг). Визначали коефіцієнт маси нирок. У плазмі крові та сечі вимірювали вміст глюкози глюкозооксидазним методом, креатинін – за реакцією Яффе. Білок у сечі визначали сульфосаліциловим методом. Розраховували швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) за ендogenousним креатиніном і канальцеву реабсорбцію [1]. Для морфологічних досліджень нирки фіксували у 10 % нейтральному формаліні, заливали в парафін і виготовляли гістологічні препарати за стандартними методиками (забарвлення гематоксилін-еозин). Для статистичної обробки результатів використовували критерії Ст'юдента за нормального розподілу та Вайта за його відсутності, а також кутове перетворення Фішера. Зв'язок між окремими показниками оцінювали за коефіцієнтом кореляції Пірсона.

Результати та їх обговорення. Алоксановий ЦД характеризується високою летальністю (у групі КП вижило 18,8 % мишей). Тяжкий перебіг ЦД підтверджується падінням маси тіла (на 16,3 % у групі КП). Еналаприлат і діакамф збільшували виживаність – відповідно 50,0 % ($p < 0,05$ відносно КП) і 58,3 % ($p < 0,05$); маса тіла зменшилася відповідно 6,3 % і 2,6 %.

Гіперглікемія в групі КП становила $14,1 \pm 1,92$ ммоль/л – майже в 4 рази вище, ніж в ІК, а глюкозурія зростала майже в 3 рази (табл. 1). Мала місце тенденція до поліурії за рахунок пригнічення канальцевої реабсорбції (на 8,7 % на тлі більш ніж двократного зменшення ШКФ ($p < 0,05$)). Гальмування реабсорбції може бути зумовлене як осмотичним механізмом за рахунок глюкозурії, так і порушенням функціонального стану епітелію канальців, а зниження ШКФ свідчить про ушкодження клубочків. Цьому відповідає зростання вмісту креатиніну в крові в 3,5 рази. Протеїнурія зросла на 67 % ($p < 0,05$), що корелює з глікемією ($r = 0,70$) та особливо з глюкозурією ($r = 0,73$, $p < 0,05$). Коефіцієнт маси нирок збільшився в 1,14 рази. Все це свідчить про розвиток діабетичної нефропатії.

Таблиця 1 – Уміст глюкози в крові та стан функції нирок у мишей із моделлю алоксанового цукрового діабету (21-ша доба) під впливом діакаму та еналаприлату, $M \pm m$

Показники	Інтактний контроль, n=13	Алоксановий діабет		
		Контрольна патологія, n=6	Діакаmf, n=7	Еналаприлат, n=6
Глюкоза крові, ммоль/л	3,67±0,64	14,1±1,92 *	5,20±1,83 #	7,44±1,54 **
Діурез, мл/10 г за 2 год	0,59±0,04	0,69±0,04	0,49±0,08 #	0,45±0,08 #
Виведення навантаження, %	117±7,09	137±7,63	96,5±16,8 #	89,8±15,4 #
Глюкоза сечі, ммоль/л	0,47±0,11	1,31±0,66	0,77±0,24	2,09±1,04
Глюкозурія, мкмоль/10 г	0,28±0,069	0,73±0,282	0,28±0,064	0,49±0,18
Білок сечі, г/л	0,13±0,03	0,19±0,04	0,15±0,04	0,20±0,07
Екскреція білка, мг/10 г	0,07±0,01	0,12±0,01 *	0,08±0,02	0,09±0,02
Креатинін крові, мкмоль/л	31,6±3,89	110,9±16,1 *	46,2±16,8 #	57,3±8,16 **
ШКФ, мл/хв на 10 г	0,11±0,008	0,05±0,003 *	0,09±0,008#	0,06±0,011**
Реабсорбція води, %	95,3±0,28	87,5±1,67 *	95,4±0,24 #	91,6±1,36**^
Коефіцієнт маси нирок, %	1,34±0,04	1,53±0,07 *	1,44±0,08	1,47±0,09

Примітки: Статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * – із показником ІК, # – із показником КП, ^ – із показником мишей, що отримували діакаmf

Порушення стану нирок при алоксановому ЦД підтверджено результатами гістологічного дослідження. Порівняно з ІК (рис.1) у нирках мишей групи КП спостерігалось розширення просвіту каналців, зменшення розмірів нефроцитів, дистрофія епітелію (рис. 2а), ознаки порушення гемодинаміки (крововиливи), десквамація епітелію каналців, розширення просвіту каналців зі зменшенням розміру нефроцитів і слідами відторгнутих клітин, пікнотичне зморщування клубочків (рис. 2б).

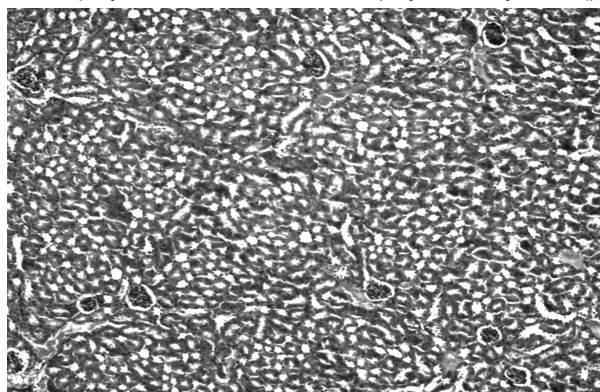
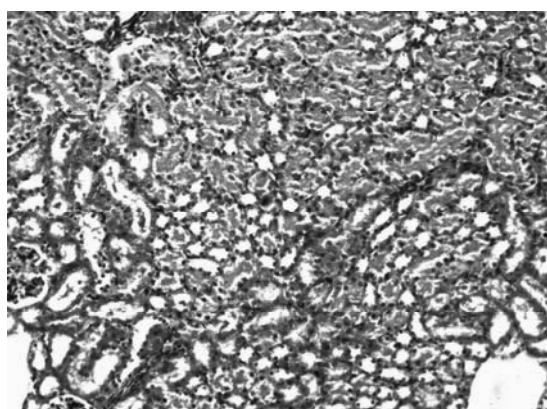
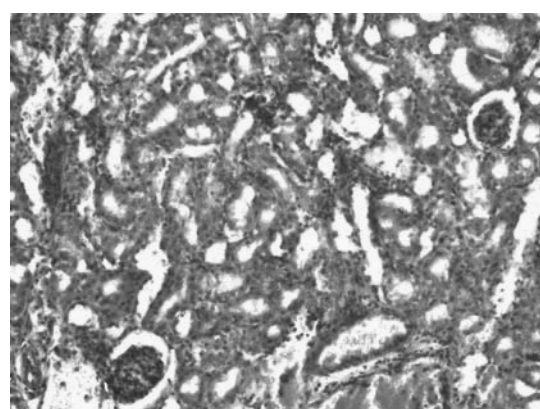


Рис. 1. Нирка інтактної миші (контроль). Нормальна гістоструктура. Гематоксилін-еозин, $\times 100$



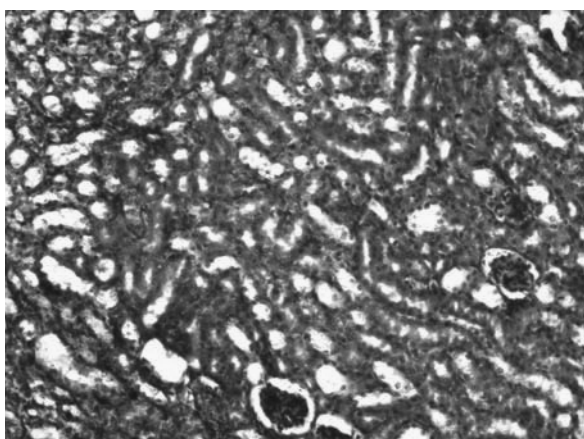
а



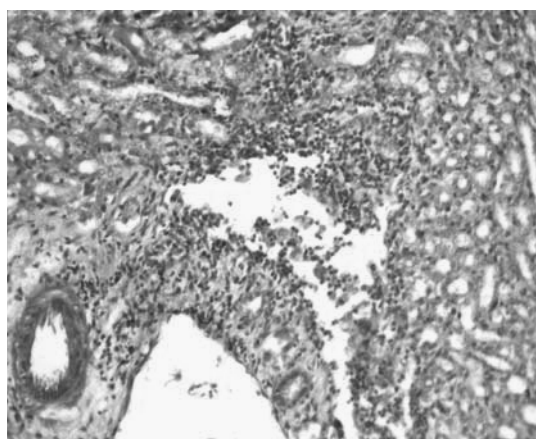
б

Рис. 2. Нирки мишей із моделлю алоксанового ЦД (КП, 21-ша доба). Розширення каналців, зменшення розмірів нефроцитів, дистрофія ниркового епітелію (а). Крововиливи, десквамація епітелію каналців із розширенням їх просвіту, зменшенням розміру нефроцитів і слідами відторгнутих клітин, пікнотичне зморщування клубочків (б). Гематоксилін-еозин, $\times 100$

Діакаmf значно зменшував гіперглікемію, усував поліурію, знижував ниркову екскрецію глюкози й білка, нормалізував ШКФ, каналцеву реабсорбцію та вміст креатиніну в крові (табл. 1). Також діакаmf нормалізував концентраційну функцію нирок, створюючи вірогідну від'ємну кореляцію між об'ємом сечі та концентрацією в ній креатиніну й глюкози (відповідно $r = -0,83$ і $r = -0,84$, $p < 0,05$). Протеїнурія не корелювала з рівнем глюкози в крові та сечі. Маса нирок перевищувала таку в ІК лише в 1,07 разу, морфологічний стан був значно краще, ніж у групі КП. Переважала нормальна гістоструктура (рис. 3а), іноді – десквамація епітелію каналців, пікнотичне зморщування клубочків, розширення просвіту каналців зі зменшенням розміру нефроцитів, сліди відторгнутих клітин, рихле скупчення клітин (рис. 3б).



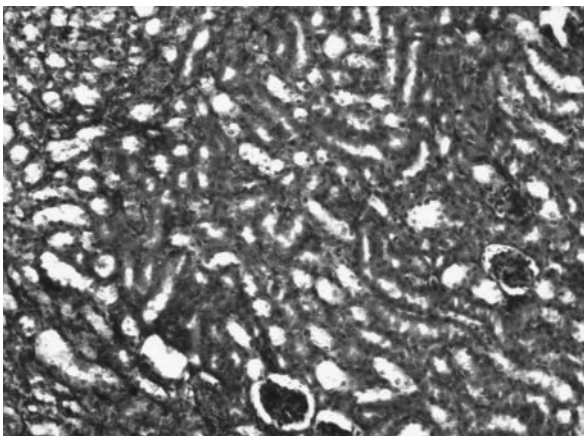
а



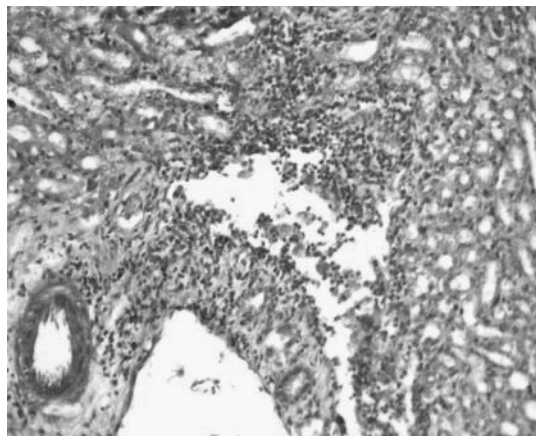
б

Рис. 3. Нирки мишей із моделлю алоксанового ЦД (21-ша доба), лікованих еналаприлатом (2,5 мг/кг). Нормальна гістоструктура (а). Десквамація епітелію канальців, пікнотичне зморщування клубочків, розширення канальців зі зменшенням розмірів нефроцитів, сліди відторгнутих клітин, рихле згущення клітин (б). Гематоксилін-еозин, $\times 100$

Еналаприлат за ефективністю поступався діакамфу (табл. 1): глікемія в 2 рази перевищувала таку в групі ІК ($p < 0,05$). Діурез був достовірно нижче порівняно з КП, але глюкозурія та протеїнурія – вище, ніж у групі діакамфу. ШКФ, канальцева реабсорбція та креатинін крові під впливом еналаприлату були вірогідно нижче, ніж у групі КП, проте на відміну від групи діакамфу вірогідно перевищували такі в ІК. Кореляції між показниками стану нирок наближалися до таких на тлі діакамфу, а відносна маса нирок перевищувала таку в ІК. Мала місце нормальна гістоструктура нирок (рис. 4а) або збільшення просвіту канальців і наслідки гемодинаміки порушень – кровонаповнення судин (рис. 4б).



а



б

Рис. 4. Нирки мишей із моделлю алоксанового цукрового діабету (21-ша доба), лікованих діакамфом (25 мг/кг). Нормальна гістоструктура, епітелій канальців і клубочки без змін (а). Розширення канальців, ознаки порушення гемодинаміки – кровонаповнення судин (б). Гематоксилін-еозин, $\times 100$

Отже, діакамф на моделі алоксанового ЦД збільшує виживаність мишей, чинить гіпоглікемічну дію та нефропротекторний ефект: зменшення протеїнурії, попередження падіння ШКФ і канальцевої реабсорбції, нормалізація вмісту креатиніну в крові та зменшення виразності морфологічних змін у нирках. За нефропротекторними властивостями діакамф перевищує еналаприлат і має додаткову перевагу – краще нормалізує вуглеводний обмін, що дозволяє за рахунок застосування одного препарату краще компенсувати вуглеводний обмін і забезпечити органопротекторний ефект у нирках – органі-мішені ЦД.

Висновок. Діакамф (25 мг/кг) збільшує виживаність мишей із моделлю алоксанового цукрового діабету та викликає в них гіпоглікемічний та нефропротекторний ефект, перевершуючи референс-препарат еналаприлат (2,5 мг/кг).

Перспективи подальших досліджень. Результати обґрунтовують доцільність випробування діакамфу як лікарського засобу при ЦД домашніх тварин – котів і собак.

Список літератури

1. Берхин, Е.Б. Методи експериментального дослідження почек и водно-солевого обмена [Текст] / Е.Б. Берхин, Ю.И. Иванов. – Барнаул, 1972. – 199 с.
2. Дедов, И.И. Диабетическая нефропатия [Текст] / И.И. Дедов, М.В. Шестакова. – М.: Универсум паблишинг, 2000. – 190 с.
3. Мерзлікін, С.І. Розробка і стандартизація оригінального антидіабетичного засобу на основі (\pm)-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонової кислоти [Текст] : автореф. дис. ... д-ра фарм. наук / С.І. Мерзлікін. – Х., 2004. – 36 с.
4. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень [Текст] : метод. реком. / С.Ю. Штриголь [та ін.] ; МОЗ України, Держ. фармакол. центр. – К., 2009. – 47 с.
5. Морозенко, Д.В. Оксипролін та уронів кислоти сечі як діагностичні тести за цукрового діабету в домашніх котів [Текст] / Д.В. Морозенко // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. – 2010. – Вип. 11, № 2–3. – С. 250–253.
6. Патогенез и лечение хро-

нических осложнений сахарного диабета [Текст] / А. Ефимов [и др.] // Вісн. фармакол. та фармації. – 2007. – № 11. – С. 27–34. 7. Штрыголь, С.Ю. Повышенное потребление натрия хлорида модулирует мочегонное действие энalapрилата у интактных крыс и на модели отечного синдрома [Текст] / С.Ю. Штрыголь, В.А. Шумакова // Эксперим. и клин. фармакол. – 2006. – Т.63, № 3. – С. 32–34. 8. Hypoglycemic effects and mechanisms of action of Cortex Lycii Radicis on alloxan-induced diabetic mice [Text] / G. Davei [et al.] // Yakugaku Zasshi. – 2007. – Vol. 127, № 10. – P. 1715–1721. 9. Rios, L. Feline diabetes mellitus: diagnosis, treatment, and monitoring [Text] / L. Rios, C. Ward // Compend. Contin. Educ. Vet. – 2008. – №30 (12). – P. 626–639. 10. Rock, M. Diabetes in people, cats, and dogs: biomedicine and manifold ontologies [Text] / M. Rock, P. Babinec // Med. Antropol. – 2008. – №27 (4). – P. 324–352.

THE FUNCTIONAL STATE AND HISTOLOGICAL STRUCTURE OF KIDNEY IN MICE WITH DIABETIC NEPHROPATHY MODEL TREATED WITH DIACAMPH AND ENALAPRILATE

Shtrygol' V.S., Kutsan A.T., Shutchenko P.A.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

Merzlikin S.I.

National Pharmaceutical University, Kharkiv

In experiments on mice with the model of alloxan-induced diabetes mellitus the novel antihyperglycemic medicine diacamph in a dose 25 mg/kg improves the functional and morphological state of the kidneys. Manifestations of the nephroprotective effect are reduction of polyuria and proteinuria, normalization of creatinine level in the blood, prevention of decline in glomerular filtration and tubular reabsorption, reduction of kidneys histology violations. The effectiveness of diacamph is higher than that of the known nephroprotector in diabetes mellitus – angiotensin-converting enzyme inhibitor enalaprilate in a dose 2,5 mg/kg.

УДК 619:591.8:616-097.3:578.832.1

СТАН МУКОЗАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ КУРЧАТ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФІКУВАННЯ ВІРУСОМ НИЗЬКОПАТОГЕННОГО ГРИПУ ПТИЦІ

Шутченко П.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Птахівництво в країнах з інтенсивним розвитком тваринництва надають особливо великого значення, вважаючи його одним з основних чинників у проблемі забезпечення населення м'ясопродуктами. Вирішення цієї важливої проблеми пов'язано зі стійким благополуччям господарств стосовно захворювань інфекційної етіології [4]. Вірусні хвороби, які проявляються масовим ураженням респіраторних органів та органів травлення домінують у їх загальній патології. Особливе місце серед них займають хвороби інфекційної етіології, які спричиняють великі економічні збитки господарствам. Основними такими хворобами у курей є грип птиці, мікоплазмоз, ларинготрахеїт, інфекційний бронхіт курей, ньюкаслська хвороба, вивченню яких в останні роки приділяється зростаюча увага. Ці хвороби відносять до мукозальних захворювань. Тому, разом із загальним – клітинним і гуморальним імунітетом, доцільно вивчати локальний, або мукозальний імунітет слизових оболонок респіраторного, шлунково-кишкового тракту, а також кон'юнктивно-асоційовану лімфоїдну тканину. Слизова оболонка із-за її топографічної позиції є першою для ураження патогенами та взаємодіє з екзогенними антигенами [1]. Вона містить комплекс факторів неспецифічного та специфічного імунного захисту, що в більшості випадків забезпечує надійний бар'єр від проникнення патогенів. Імунітет слизової оболонки являє собою складну систему, який включає структуровані та лімфоїдні тканини, епітеліальні клітини, дендритні клітини, макрофаги, нейтрофіли [3]. Вивченню мукозального імунітету разом із загальним приділяється окрема увага дослідниками всього світу. З цієї метою використовують найсучасніші методи гістохімії та імуногістохімії, що ґрунтуються на імуноферментному виявленні імунокомпетентних клітин та антигенів збудників за допомогою специфічних або антивидових сироваток у зрізах тканини [2]. Проте такі дослідження загального та мукозального імунітету в Україні не проводяться. Застосування імуногістохімічних методів дозволяє вивчити динаміку імунної відповіді у домашньої птиці та тварин на рівні субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів і макрофагів і М-клітин (мембранних клітин) шлунково-кишкового тракту.

Матеріали та методи. У досліді використовували 2 групи птиці: перша група – курчата, інфіковані вірусом низькопатогенного грипу птиці A/Garganey/Chervonooskilske/4-11/2009 (H4N6). Друга група курчат слугувала інтактним контролем. Від курчат на 1-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у та 21-у добу відібрано зразки внутрішніх органів – сліпа кишка, трахея, легені. Матеріал фіксували в рідкому азоті. Проведено виготовлення гістологічних препаратів із застосуванням кріостату, фарбування зрізів імуногістохімічним методом із застосуванням міченого стрептавідин-біотину.

З метою імуногістохімічних досліджень вивчення формування імунної відповіді курчат були застосовані моноклональні антитіла до субпопуляцій імунокомпетентних клітин: CD4, CD8, IgM, IgG, IgA, макрофаги.

Імуногістохімічний облік клітинних субпопуляцій Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів, макрофагів у внутрішніх органах було здійснено за допомогою комп'ютерної програми «ВідеоТест Морфологія-5,0». У цих органах було підраховано відсоткове співвідношення зон позитивно фарбованих клітин до всіх клітин зрізу (незабарвлених). Отримані дані обробляли статистично.

Результати досліджень. При детальному вивченні динаміки формування імунної відповіді у інфікованих та контрольних курчат були встановлені наступні зміни.

У легенях при вивченні динаміки накопичення Т-лімфоцитів з поверхневим маркером CD4 у інфікованих курчат встановлено процес супресивного спаду активності даних клітин з 1-ї по 5-у добу ($1,113 \pm 0,017$ % при $3,036 \pm 0,449$ % – у контролі). На 7-у добу зареєстровано процес збільшення клітин з максимальним показником на 10-у добу на рівні $2,360 \pm 0,011$ % при $3,08 \pm 0,540$ % – у контрольній птиці. Процес спадання активності клітин тривав з 10-ї по 21-у добу, причому рівень відсоткової кількості клітин у заражених курчат був нижчим за контрольну групу протягом усього періоду спостережень.

При вивченні динаміки змін імунокомпетентних клітин з маркером CD8 (Т-кілери) упродовж п'яти днів спостерігали процес супресивного зниження відсотку цих клітин у інфікованих курчат на фоні підйому їх відсоткової кількості у контрольній групі