

На правах рукописи

**МАШАДИЕВА ВИКТОРИЯ ВАСИЛЬЕВНА**

**ФАРМАКОКОРРЕКЦИЯ ИММУНОБИОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА У  
СОБАК, БОЛЬНЫХ ЧУМОЙ ПЛОТОЯДНЫХ**

16.00.03 -Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

16.00.04 -Ветеринарная фармакология с токсикологией

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук



Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия  
ветеринарной медицины»

Научные руководители: доктор ветеринарных наук, профессор  
Шагиахметов Юрий Сунгатович  
кандидат ветеринарных наук, доцент  
Гизатуллина Фирдаус Габдрахмановна

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор  
Харитонов Михаил Васильевич  
доктор ветеринарных наук  
Новиков Валерий Александрович

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Уральская государственная  
сельскохозяйственная академия»

Защита диссертации состоится «01.» июля 2005 г. в «14» часов на заседа-  
нии диссертационного совета Д - 220.034.01 при ФГОУ ВПО «Казанская  
государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»  
(420074, г. Казань, ул. Сибирский тракт, д. 35)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Казанская  
государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

Автореферат разослан «30» мая 2005 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
профессор



М.С. Ежкова

## 1. Общая характеристика работы

**Актуальность темы.** Важную роль в жизни человека играют мелкие непродуктивные животные: кошки и собаки, которые входят в его быт. Содержат этих животных, как правило, в домашних условиях. При заболевании они создают большие неудобства для владельцев, особенно, если болезнь связана с вирусной инфекцией.

Актуальной задачей ветеринарных специалистов является поиск новых методов лечения и профилактики чумы плотоядных. Большую роль в лечебно-профилактических мероприятиях имеет правильный подбор лекарственных веществ в составе средств комплексной терапии (И.П. Долгушин и соавт., 1992; П.И. Игнатов, 1994; М.В. Михайлова, 1999; В.В. Машадиева, Ю.С. Шагиахметов, 2004,2005)

Современное представление об этиологии, клинике и патогенезе чумы плотоядных позволяет использовать синергидные лекарственные препараты и различные их сочетания при лечении больных.

В настоящее время в мировой медицинской практике формируется новое направление, получившее название квантовой гемотерапии. Квантовая гемотерапия включает в себя все методы терапии, в основе которых лежит внутрисосудистое или экстракорпоральное воздействие на кровь лучевой энергии независимо от ее спектрального диапазона. Ультрафиолетового облучения (УФО)-аутокрови широко применяется при различных заболеваниях: гнойно-воспалительных, желудочно-кишечных, сердечно-сосудистых, болезнях почек, органов дыхания и др. Имеются отрывочные сведения о применении УФО-аутокрови при лечении диспепсии, бронхопневмонии, рахита, нарушениях обмена веществ, парвовирусного энтерита (Ю.С. Шагиахметов, Н.А. Кожевина, 2001, 2002; О.Н. Канина, Д.Б. Каримов, 2003; К.В. Даллакян и соавт., 2005 и др.). В доступной нам литературе мы не нашли данных о применении УФО-аутокрови и иммуномодулятора ронколейкина при лечении собак, больных чумой плотоядных. В гуманитарной медицине широко применяется иммуномодулятор ронколейкин- (интерлейкин-2), который продуцируется субпопуляцией Т-лимфоцитов (Т-хелперов) в ответ на антигенную стимуляцию. Чума плотоядных регистрируются в основном у молодых животных, имеющих низкую иммунную реактивность, болезнь протекает тяжело с высокой летальностью. В свете изложенного представляет научный и практический интерес фармакокоррекция иммунного и биохимического статуса у больных собак для повышения специфических и неспецифических факторов защиты организма.

**Цели и задачи исследования.** Цель настоящей работы - изучить влияние УФО-аутокрови и иммуномодулятора ронколейкина, в составе средств комплексной терапии на состояние иммунной реактивности собак при чуме плотоядных.

Для реализации поставленной цели определены следующие задачи:

- 1) изучить эффективность фармакокоррекции ронколейкином и УФО-аутокрови на показатели лейкоформулы, белкового обмена и резерв-

ной щелочности, состояние клеточных и гуморальных факторов иммунитета у собак при чуме плотоядных;

- 2) определить терапевтическую эффективность применения ронколейкина и УФО-аутокрови в составе средств комплексной терапии при лечении больных собак;
- 3) дать рекомендации по применению УФО-аутокрови и ронколейкина, при лечении собак, больных чумой плотоядных.

**Научная новизна.** Впервые в практике ветеринарной медицины было проведено лечение собак, больных чумой плотоядных, с применением в составе средств комплексной терапии УФО-аутокрови и ронколейкина. Установлено положительное влияние УФО-аутокрови и ронколейкина на иммунобиохимический статус собак, больных чумой плотоядных. По результатам исследований разработана научно-обоснованная схема патогенетической терапии с применением иммуномодулятора ронколейкина и физических методов.

Челябинским областным управлением ветеринарии утверждено «Временное наставление» по широкому испытанию УФО-аутокрови в ветеринарной медицине до 01.01.2007 года.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** На основании полученных данных о состоянии иммунитета, уровня фагоцитарной и лимфоцитарной активности в крови исследуемых животных, нами разработан комплексный метод лечения собак, больных чумой плотоядных. Изучена терапевтическая эффективность УФО-аутокрови и ронколейкина при лечении больных собак. По результатам исследований даны практические рекомендации для практикующих ветеринарных врачей и клиницистов по применению УФО-аутокрови и ронколейкина в составе средств комплексной терапии. Экспериментальным путем подтверждено иммуномодулирующее действие УФО-аутокрови и ронколейкина.

Результаты проведенных исследований дают возможность ветеринарным врачам клиницистам повысить эффективность лечебных мероприятий и сохранность больных собак. Кроме того, полученные материалы могут быть использованы при написании учебников, методических рекомендаций и руководств по лечению мелких непродуктивных животных.

**На защиту выносятся следующие положения:**

- у больных животных увеличивается уровень фагоцитарной активности нейтрофилов, возрастает количество лейкоцитов, Т-и В-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-супрессоров. В крови появляются юные нейтрофилы и миелоциты, снижается число эозинофилов, увеличивается количество лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов; возрастает уровень секреторного Ig-A и Ig-M, снижается количество общего белка и гамма-глобулиновой фракции;
- после лечения больных животных с применением в составе средств комплексной терапии УФО-аутокрови и ронколейкина в крови не выявляются юные нейтрофилы и миелоциты, нормализуется количество лейкоцитов, лимфоцитов, палочкоядерных и

сегментоядерных нейтрофилов, уровень общего белка и белковых фракций, количество Т-и В-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-супрессоров, что свидетельствует об иммуномодулирующем действии УФО-аутокрови и ронколейкина.

**Апробация результатов научных исследований.** Материалы исследований доложены на международной научно-практической конференции «Перспективные направления научных исследований молодых ученых Урала и Сибири»-Троицк, 2004; международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины», посвященной 75 летию УГАВМ.-Троицк, 2005; на международной научно-практической конференции Костанайского инженерно-экономического университета им. М. Дулатова.- Костанай, 2004; международной научно-практической конференции.- Костанай, 2005.

**Публикации результатов исследований.** Основные положения работы опубликованы в 7 научных статьях, тезисах, материалах конференций Уральской государственной академии ветеринарной медицины и Костанайского аграрно-экономического университета.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений, библиографического списка и приложения.

Работа изложена на 165 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 22 рисунками и 24 таблицами. Библиографический список включает 262 источников, в том числе - 61 иностранных авторов.

## **2. Материалы и методы исследований**

Экспериментальная часть работы выполнена в 2003- 2004 годов в иммунологическом отделе, на базе ветеринарной клиники и Фонда Зоозащиты «Спаси меня» города Челябинска.

Диссертационная работа является самостоятельным разделом темы. Регистрационный №0122002 10915.

Первоначально было обследовано 150 собак различных пород в возрасте от 2 месяцев до 3 лет. По результатам клинических и серологических исследований, были отобраны животные, больные чумой плотоядных. Нами было сформировано 3 группы собак по 10 голов в каждой: первая группа - здоровые животные, которые служили контролем. Собаки второй и третьей группы - опытные, больные чумой плотоядных. Лечение проводили комплексно, в составе средств комплексной терапии были подобраны синергидные лекарственные препараты. Животным первой опытной группы в составе средств комплексной терапии 3-хкратно подкожно вводили иммуномодулятор ронколейкин в дозе 10 000 МЕ/кг массы животного, подкожно, трехкратно с интервалом 24 часа. Собак второй опытной группы лечили аналогично, но дополнительно проводили ультрафиолетовое облучение аутокрови (УФО-аутокрови). Для этого, у животного брали кровь в количестве 2,0 мл/кг массы животного, стабилизировали ее гепарином и проводили облучение крови ультрафиолетовыми лучами в аппа-

рате «Фотон», (изготовленным на кафедре терапии УГАВМ), при длине волны 254 нм, доза облучения крови составляла  $640 \pm 40$  Дж/м<sup>2</sup>. Облученную УФ-лучами аутокровь, вводили животным внутривенно. Курс лечения рассчитан на три сеанса через день. Породный состав больных животных: немецкие овчарки 12, кавказские овчарки 10, ротвейлеры 8 животных. Подбор собак в контрольную и опытные группы проводили по методу аналогов. Средний возраст животных варьировал от 2-х до 6 месяцев.

Лейкограмму выводили по окрашенным мазкам крови путем дифференциального подсчета 200 лейкоцитов под иммерсионной системой микроскопа по методу Филиппченко. Общий белок определяли при помощи рефрактометра ИРФ-22, разделение белковых фракций сыворотки крови проводили на агаровом геле, резервную щелочность определяли методом двоянных колб по И.П. Кондрахину.

Для определения иммунной резистентности животных изучили популяцию нейтрофилов периферической крови собак, определяли фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), Подсчитывали лизосомы в нейтрофилах по И.С. Фрейдлину, (1986).

Исследовали внутриклеточный кислородзависимый метаболизм фагоцитов, используя НСТ-тест (Park B. et al., 1968; А.Н. Маянский, М.Е. Виксман, 1979) в модификации по А.В. Зурочка (1984). Определение количества Т-и В-лимфоцитов осуществляли в реакции спонтанного розеткообразования по методу M. Jondal et al. (1972) в модификации Р.В. Петрова и соавт. (1997) и А.В. Зурочка (1984).

Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови собак определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по Mancini G. et al., (1965) в модификации А.А. Тихомирова (1977).

Определение циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови животных проводили по методу, предложенному В. Гашковой и соавт. (1978).

Статистическую обработку полученных цифровых данных проводили общепринятыми методами вариационной статистики (А.М. Мерков, Л.Е. Поляков, 1974; Г.Ф. Лакин, 1990). Степень достоверности различия между сравниваемыми средними величинами оценивали с помощью функции Стьюдента (t).

### **3. Результаты собственных исследований**

#### **3.1 Состояние клинического и иммунного статуса у собак при чуме плотоядных**

Заболевание животных происходило вследствие контакта с вирусоносителями, при выгуле животных в местах обитания бродячих собак, снижения естественной иммунной резистентности в результате плохого ухода и кормления животных, несвоевременной вакцинации щенков после отъема от матери.

У животных наблюдали отказ от корма, угнетенное состояние, иногда исчезновение ранее выработанных условных рефлексов, возникали рвота со слизью, диаррея. Больные животные неохотно реагировали на зов,

стремились укрыться в темном месте, поедали в небольшом количестве пищу. Носовое зеркальце было, как правило, сухое, иногда целостность кожи на носу нарушалась, появлялись сухие корочки. Рвоту регистрировали постоянно до выздоровления. Фекалии были жидкие серо-желтые, часто с примесью крови, с обилием слизи или водянистые со зловонным запахом. У некоторых собак после появления рвоты и диареи развивались признаки поражения респираторной системы. Температура тела у животных повышалась до 39,5–41° С.

Нами проводились исследования иммунного статуса у животных больных чумой собак. Исследовали по определению состояние клеточных и гуморальных факторов иммунитета у здоровых и больных чумой плотоядных собак.

Нами были изучены.

1. Уровень содержания антигена вируса чумы у здоровых и больных собак с признаками чумы плотоядных.

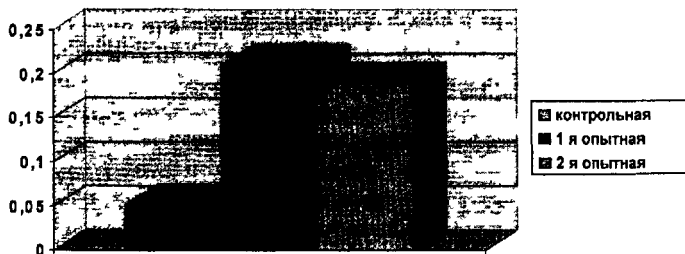
2. Данные лейкоформулы крови, определен уровень клеточного и гуморального иммунитета, все данные проводили в сравнении с показателями здоровых собак.

3. Для сравнительной характеристики использовали фоновые данные, полученные до начала лечения животных.

### 3.2 Состояние клеточного иммунитета у собак

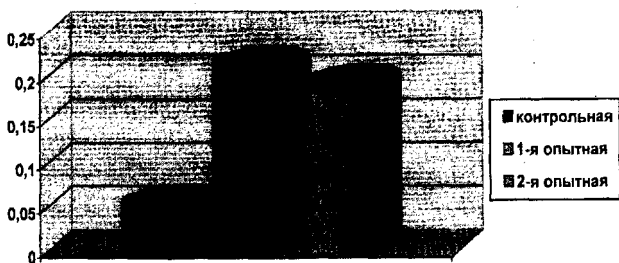
#### при Чуме плотоядных

Уровень АГ в сыворотке крови здоровых собак составил  $0,052 \pm 0,005$  условных единиц. Полученные данные свидетельствуют о незначительном количестве антигена вируса чумы в крови здоровых животных.



**Рис. 1. Данные ИФА у собак до лечения**

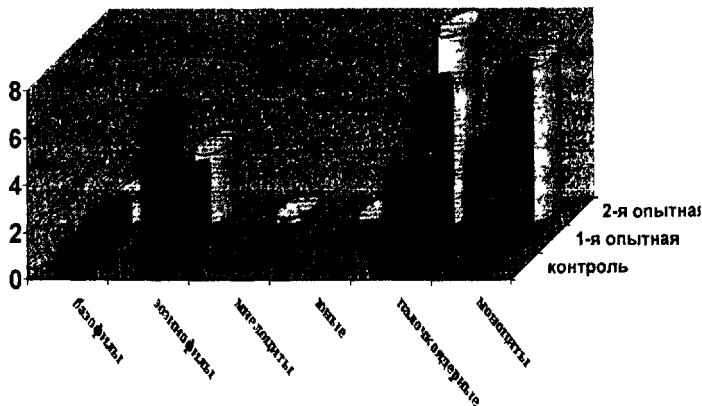
В крови собак первой и второй опытных групп этот показатель составил соответственно  $0,21 \pm 0,01$  и  $0,19 \pm 0,004$  усл ед. В крови собак первой и второй опытных групп уровень антигена превышал контрольные величины у здоровых животных соответственно на 59,1 и 63,46 % (рис.1). Антигены-чужеродные вещества, способные индуцировать иммунный ответ (образование антител и эффектов клеточного иммунитета) и вступать в реакцию с продуктами этого ответа. Иммунный ответ на каждый индивидуальный антиген специфичен. В данном случае мы регистрировали значительное увеличение уровня антигена в крови больных животных.



**Рис. 2. Уровень лейкоцитов в крови собак до лечения**

Проведенные исследования показали, что уровень лейкоцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях, до лечения, составил соответственно  $11,13 \pm 0,2$ ;  $16,99 \pm 0,01$  и  $17,05 \pm 0,2^*$  10%. В крови собак первой и второй опытных групп уровень лейкоцитов был выше, чем в контрольной группе, соответственно на 52,65 и 53,89 % (рис.2).

Увеличение уровня лейкоцитов в данном случае связано с воспалительным процессом в организме больных чумой плотоядных.



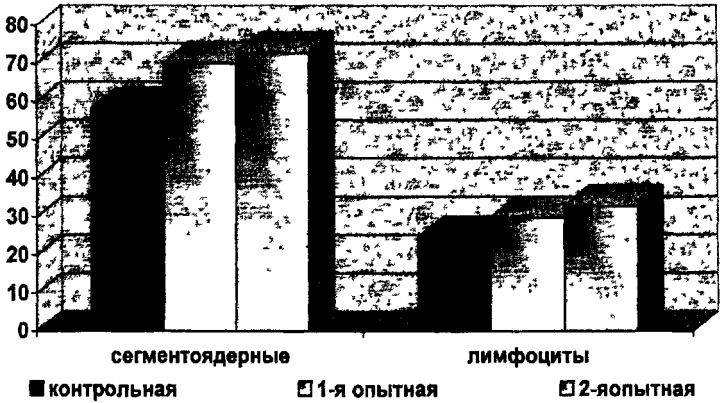
**Рис.3 Лейкограмма крови собак до лечения**

Уровень базофилов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно  $1,11 \pm 0,02$ ;  $1,29 \pm 0,01$  и  $1,31 \pm 0,003$  %. В крови собак первой и второй опытных групп их уровень был выше, чем в крови собак контрольной группы, соответственно на 16,22 и 18,02 % (рис. 3). Основная функция базофилов - это участие в реакциях гиперчувствительности немедленного типа, опосредованных антителами.

Количество эозинофилов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составило соответственно



6,7±0,23; 2,8±0,4 и 3,01±0,23 %. Отмечено снижение уровня эозинофилов в крови собак первой и второй опытных групп, в сравнении со здоровыми животными соответственно на 58,21 и 55,07 % (рис.3).



**Рис. 4. Уровень лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов в крови собак до лечения**

В крови подопытных животных первой и второй групп появляются незрелые формы нейтрофилов, миелоциты и юные клетки, уровень которых в крови собак составил соответственно 0,16±0,003; 0,24±0,01 и 0,12±0,2; 0,16±0,002 %. Появление в лейкограмме молодых и дегенеративных форм (ядерный сдвиг нейтрофилов) свойственно инфекционным заболеваниям (И.П. Кондрахин, 1985).

Уровень палочкоядерных нейтрофилов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно 4,11±0,01; 6,41±0,2 и 7,91±0,2 %. В сравнении со здоровыми животными отмечено увеличение уровня палочкоядерных нейтрофилов соответственно на 55,96 и 92,46 %.

Уровень сегментоядерных нейтрофилов в крови здоровых животных, а также собак первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно 58,12±1,4; 71,26±2,1 и 72,89±3,2 %.

Количество сегментоядерных нейтрофилов в крови собак первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях было выше, чем в крови здоровых животных, соответственно на 20,90 и 25,41 % (рис.4).

Увеличение уровня нейтрофилов произошло более, чем на 13 %, что свидетельствует об усилении воспалительных процессов в организме животных, связанных с вирусной инфекцией.

Уровень лимфоцитов в крови собак первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно 24,80±0,4; 29,92±0,2 и 29,94±0,3 %. Как видно по материалам таблицы, в крови больных животных первой и второй опытных групп отмечено увеличение уровня лимфоцитов в сравнении со здоровыми животными соответственно на 20,64 и

32,82 % (рис.4). Увеличение уровня лимфоцитов в крови подопытных животных характерно для чумы плотоядных. Проведенные исследования уровня моноцитов позволили установить, что их уровень в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно  $5,03 \pm 0,3$ ;  $7,04 \pm 0,2$  и  $6,54 \pm 0,2$  %. Уровень моноцитов в крови собак первой и второй опытных групп был выше, чем в фоновых исследованиях, соответственно на 39,96 и 30,02 % (рис.3).

Уровень фагоцитоза в крови здоровых собак составил  $8,72 \pm 0,12$ , в крови больных животных первой и второй опытных групп - соответственно  $10,68 \pm 1,14$  и  $11,53 \pm 2,3$  %. В крови больных животных отмечен рост уровня активности фагоцитоза, который в крови собак первой и второй опытных групп был выше, чем в крови здоровых животных соответственно на 22,47 и 32,22 %. Интенсивность фагоцитоза в крови здоровых животных составила соответственно  $10,97 \pm 1,44$  усл. ед, а в крови больных собак первой и второй опытных групп интенсивность фагоцитоза была выше и составила соответственно  $16,82 \pm 2,00$  усл. ед.

Интенсивность фагоцитоза в крови больных животных была выше, чем в крови здоровых животных, соответственно на 53,33 и 45,40 %.

Уровень ИОЛЛ в крови здоровых животных составил соответственно  $221,73 \pm 6,33$  усл. ед. В крови собак первой и второй опытных групп этот показатель составил соответственно  $196,25 \pm 9,51$  и  $189,21 \pm 10,43$  усл. ед. Проведенные исследования показали, что уровень ИОЛЛ в крови собак первой и второй опытных групп снижался в сравнении со здоровыми животными соответственно на 11,49 и 14,67%. Указанные изменения свидетельствуют о том, что в результате токсического влияния вирусного антигена в организме больных животных снижена антивирусная активность нейтрофилов.

Уровень Т-лимфоцитов в крови больных собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно  $5,72 \pm 0,002$ ;  $8,71 \pm 0,002$  и  $9,12 \pm 0,003$ .

В крови больных собак первой и второй опытных групп уровень Т-лимфоцитов, в фоновых исследованиях был выше, чем в крови собак контрольной группы, соответственно на 52,27 и 59,44 %. Т-и В- лимфоциты относят к иммунокомпетентным, они поступают из центральных звеньев иммунной системы.

Уровень В-лимфоцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях, до курации составил соответственно  $10,57 \pm 0,004$ ;  $16,30 \pm 0,05$  и  $17,44 \pm 0,5$  %. В первой и второй опытных группах уровень В-лимфоцитов был выше, чем в крови здоровых животных соответственно на 54,20 и 64,99 %.

Антиген избирательно стимулирует в периферических органах иммунитета развитие и дифференцировку лишь определенных клонов Т-и В-лимфоцитов. Помощь Т-и В-лимфоцитам в распознавании антигена оказывают макрофаги и другие фагоциты.

Уровень Тх-лимфоцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно  $7,34 \pm 0,002$ ;  $10,23 \pm 0,002$  и  $12,43 \pm 0,002$  %. В сравнении с фоновыми данными их уровень в крови собак первой и второй опытных групп был выше, чем в крови собак контрольной группы, соответственно на 39,37 и 69,35 %.

Уровень Тс-лимфоцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно  $8,25 \pm 0,02$ ;  $12,51 \pm 0,003$  и  $11,96 \pm 0,002$  %. Уровень Т-супрессоров в крови собак первой и второй опытных групп был выше, чем в крови здоровых животных, соответственно на 51,64 и 44,97%.

Макрофаги в периферических лимфоидных органах частично поглощают и переваривают антиген, а часть антигена (с антигенной доминантой) фиксируют на своей поверхности, представляя ее Т-лимфоцитам (Т-хелперам и Т-киллерам).

Представленный макрофагам антиген является основным сигналом, обеспечивающим отбор клонов Т-клеток и их дифференцировку в активные Т-киллеры. Во всех системах суп рессорного действия Т-клеток подавляется выработка ВАК иммуноглобулинов класса Ig G и Ig M. Т-клетки способны подавлять и выработку Ig E или реагиновых антител.

### **3.3. Состояние гуморального иммунитета у собак при чуме плотоядных (фон)**

В крови собак контрольной, первой и второй опытных групп уровень А- иммуноглобулинов в фоновых исследованиях составил соответственно  $2,16 \pm 0,004$ ;  $3,9 \pm 0,002$  и  $2,24 \pm 0,02$  г/л. Уровень иммуноглобулинов в первой и второй опытных группах в фоновых исследованиях был выше, чем в контрольной группе соответственно на 70,83 и 3,70 %. Увеличение уровня А-иммуноглобулинов в сыворотке крови собак опытных групп мы связываем с усилением фагоцитоза макрофагами и некоторыми другими типами клеток в зоне первой линии защиты организма от вирусной инфекции.

Уровень иммуноглобулинов М в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно  $1,34 \pm 0,003$ ;  $2,30 \pm 0,004$  и  $1,41 \pm 0,002$  г/л. Их количество в первой и второй опытных группах превышало контрольные величины соответственно на 71,64 и 5,22 %. Во второй опытной группе их количество было на 66,42 % меньше, чем в первой опытной группе.

Уровень Ig G в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях составил соответственно  $1,34 \pm 0,003$ ;  $2,30 \pm 0,004$  и  $1,41 \pm 0,002$  г/л. В первой и второй опытных группах их количество в фоновых исследованиях превышало контрольные величины соответственно на 13,47 и 9,59 %.

Уровень  $CH_{50}$  в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до курации в фоновых исследованиях составил соответственно  $49,54 \pm 0,004$ ;  $61,75 \pm 0,004$  и  $56,2 \pm 0,006$  усл. ед.. Количество комплемента в крови

больных собак первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях было выше, чем в контрольной группе, соответственно на 24,64 и 13,56 %.

### **3.4. Коррекция ронколейкином и УФО-аутокрови клеточного иммунитета у собак**

После проведения комплексной терапии больных собак и выздоровления животных провели исследование уровня клеточного и гуморального иммунитета у животных опытных групп.

Уровень лейкоцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до лечения животных составил соответственно  $11,13 \pm 0,2$ ;  $16,99 \pm 0,01$  и  $17,05 \pm 0,2 \cdot 10^9$  л. После курации и выздоровления животных уровень лейкоцитов в крови подопытных животных снижался в сравнении с фоновыми данными соответственно на 26,07 и 33,37 %.

Наиболее эффективно нормализация уровня лейкоцитов проходила во второй опытной группе, где уровень лейкоцитов после выздоровления животных был на 7,30 % ниже, чем в первой опытной группе.

Указанные изменения мы связываем с применением УФО-аутокрови во второй опытной группе. Полученные результаты согласуются с данными G. Fgick (1974), который отмечает, что после применения УФО-аутокрови в крови животных отмечается снижение уровня лейкоцитов.

Уровень базофилов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп после проведенного лечения составил соответственно  $1,11 \pm 0,2$ ,  $1,10 \pm 0,4$  и  $1,02 \pm 0,1\%$ . После курации отмечено снижение уровня базофилов в первой и второй опытных группах в сравнении с фоновыми данными соответственно на 14,73 и 20,93 %. Нормализация уровня базофилов наиболее эффективно наблюдалась во второй опытной группе.



**Рис. 5. Уровень сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов в крови собак после лечения**

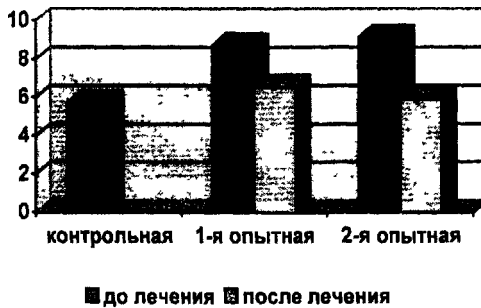
Количество эозинофилов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп составило соответственно  $6,7 \pm 0,2$ ;  $7,08 \pm 0,2$  и  $6,16 \pm 0,2$  %. В сравнении с фоновыми данными уровень эозинофилов в крови подопытных животных увеличивался соответственно на 152,86 и 104,65 %. После лечения уровень палочкоядерных нейтрофилов в крови собак подопытных групп закономерно снижался и составил соответственно  $5,30 \pm 0,04$  и  $4,40 \pm 0,2$  %. В сравнении с фоновыми данными уровень палочкоядерных нейтрофилов снижался на 36,98 и 36,32%. Снижение уровня

палочкоядерных нейтрофилов связано с выздоровлением животных. Количество сегментоядерных нейтрофилов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп после курации больных животных составило, соответственно  $58,12 \pm 1,4$ ;  $59,40 \pm 1,8$  и  $57,47 \pm 1,4$  %. В первой и второй опытных группах количество сегментоядерных нейтрофилов снижалось в сравнении с фоновыми исследованиями, соответственно на 15,45 и 21,15 %. Во второй опытной группе, где в составе средств комплексной терапии применяли УФО-аутокровь, отмечали более интенсивную нормализацию уровня сегментоядерных нейтрофилов, количество которых снижалось на 4,30 % (рис. 5).

Уровень лимфоцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп после лечения животных составил, соответственно  $24,93 \pm 0,4$ ;  $22,96 \pm 0,9$  и  $25,03 \pm 0,3$  %. В сравнении с фоновыми данными уровень лимфоцитов в крови собак первой и второй опытных групп снижался соответственно на 23,26 и 24,01% (рис. 5).

Количество моноцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп после лечения составило соответственно  $5,03 \pm 0,2$ ;  $4,16 \pm 0,3$  и  $5,92 \pm 0,4$  %. В сравнении с фоновыми данными в крови собак первой и второй опытных групп после проведения лечения и выздоровления животных отмечено снижение уровня моноцитов соответственно на 40,90 и 9,48 %. Полученные данные соответствуют норме, что свидетельствует о нормализации защитной функции белой крови у подопытных животных и эффективности УФО-аутокрови и ронколейкина в составе средств комплексной терапии при лечении больных чумой плотоядных.

При исследовании уровня Т-лимфоцитов в крови собак контрольной и подопытных групп установили, что их количество до лечения составило соответственно  $5,72 \pm 0,02$ ,  $8,71 \pm 0,1$  и  $9,12 \pm 0,2$  %.



**Рис. 6. Уровень Т-лимфоцитов в крови собак до лечения и после него.**

После проведения лечения уровень Т- лимфоцитов в крови собак первой и второй опытных групп составил соответственно  $6,55 \pm 0,02$   $5,93 \pm 0,3$  %. Уровень Т-лимфоцитов в крови собак первой и второй опыт-

ных групп после лечения был ниже чем в фоновых исследованиях соответственно на 24,79 и 34,98 % (рис. 6).

Установлено, что в крови собак второй опытной группы уровень Т-лимфоцитов был на 37,97 % (рис.6) меньше, чем в крови собак первой опытной группы. Согласно общепринятой теории клональной селекции, каждый лимфоцит в процессе развития в центральных органах иммунитета приобретает способность реагировать лишь с определенным антигеном, еще ни разу с ним не встречавшись. По данным Е.С. Воронина, А.М. Петрова, М. М. Серых, Д.А. Девришева, (2002), клон является семейством одной клетки.

Указанные изменения мы связываем с высоким бактерицидным эффектом применения УФО-аутокрови в составе средств комплексной терапии во второй опытной группе.

Уровень В-лимфоцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до лечения составил соответственно  $10,57 \pm 0,004$ ;  $16,30 \pm 0,05$  и  $17,44 \pm 0,5$  %. После проведения лечения количество В-лимфоцитов в первой и второй опытных группах закономерно снижалось и составило соответственно  $13,12 \pm 0,4$  и  $14,04 \pm 0,02$  % по отношению к контролю. По отношению к контрольной группе уровень В-лимфоцитов в крови собак первой и второй опытных групп был выше соответственно на 61,97 и 32,83 %. В первой опытной группе уровень В-лимфоцитов после лечения превышал фоновые данные до лечения на 5,03 %. А во второй опытной группе, после выздоровления животных, уровень В-лимфоцитов наоборот был ниже, чем в фоновых исследованиях соответственно на 19,49 %.

Уровень  $T_H$ -лимфоцитов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях до курации составил соответственно  $7,34 \pm 0,2$ ;  $10,23 \pm 0,3$  и  $12,43 \pm 0,2$  %. После лечения и выздоровления животных их количество в первой опытной группе увеличилось, в сравнении с данными до лечения соответственно на 1,86 %. Во второй опытной группе, наоборот, отмечено снижение уровня Т-хелперов после лечения, в сравнении с фоновыми данными на 21,64 %. По нашему мнению, произошла кооперация В-лимфоцитов с Т-хелперами, при взаимодействии с макрофагами при участии секретируемых ими белков: интерлейкинов, интерферона и др., что способствовало усилению иммунного ответа на повреждающее действие антигенов.

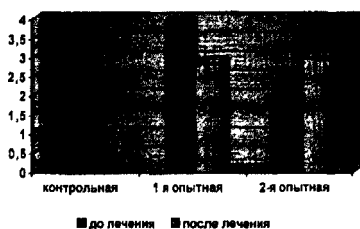
Уровень Т-супрессоров в сыворотке крови собак контрольной, первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях до лечения составил соответственно  $8,25 \pm 0,02$ ;  $12,51 \pm 0,4$  и  $13,07 \pm 0,5$  %. После выздоровления животных подопытных групп у них отмечено снижение уровня Т-супрессоров в сравнении с фоновыми данными соответственно на 20,78 и 37,64 %.

Соотношение Т-хелперов к Т-супрессорам после лечения в крови собак первой и второй опытных групп составляло соответственно 1,02 и 1,20. При норме 1,3-1,8. Уровень Т-хелперов превышал уровень Т-супрессоров, что свидетельствует о тенденции к устранению иммунного дефицита у жи-

вотных первой и второй опытных групп. Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности средств комплексной терапии. Наиболее эффективным следует считать лечение животных с применением в составе средств комплексной терапии иммуномодулятора ронколейкина и АУ-ФОК.

### **3.5. Коррекция ронколейкином и УФО-аутокрови гуморального иммунитета собак, больных чумой плотоядных**

Уровень А-иммуноглобулинов в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до лечения составил соответственно  $2,16 \pm 0,004$ ;  $3,9 \pm 0,002$   $2,24 \pm 0,02$  г/л. После выздоровления животных уровень иммуноглобулинов-А в сыворотке крови собак первой и второй опытных групп составил соответственно  $2,86 \pm 0,004$  и  $2,99 \pm 0,01$  г/л. Их количество было выше, чем в крови собак контрольной группы, на 32,41 и 38,42 % (рис. 7).



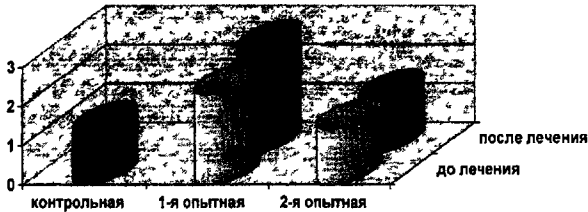
**Рис. 7. Уровень иммуноглобулинов А в крови собак до лечения и после**

Увеличение уровня иммуноглобулинов-А после лечения животных, по нашему мнению, может быть связано с накоплением их вследствие усиления фагоцитоза в зоне первичного иммунного ответа, что в свою очередь вызывает увеличение уровня М и G глобулинов, доминирующих во вторичном иммунном ответе.

Уровень иммуноглобулинов-М в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп, до лечения составил соответственно  $1,34 \pm 0,3$ ;  $2,63 \pm 0,3$  и  $1,37 \pm 0,01$  г/л. Количество иммуноглобулинов-М в крови собак первой опытной группы после лечения было на 14,35 % выше, чем в фоновых исследованиях, а во второй опытной группе - 2,84 % меньше, чем в фоновых исследованиях (рис. 8) и приближался к нормативным показателям, характерным для здоровых животных. Такой разброс данных, по нашему мнению, связан с тем, что в составе средств комплексной терапии во второй опытной группе мы наряду с ронколейкином, применяли аутоультрафиолетовое облучение крови.

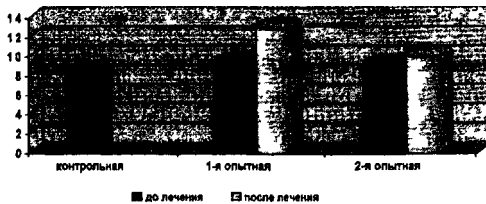
Применение УФО-аутокрови в составе средств комплексной терапии способствует нейтрализации вирусного антигена как в зоне первичного иммунного ответа, где задействованы иммуноглобулины-А и М, так и вторичного иммунного ответа в зоне ответственности иммуноглобулинов-С. Уровень иммуноглобулинов-С в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до начала лечения составил соответственно  $8,24 \pm 0,2$ ;

9,35±0,4 и 9,03±0,3 г/л. После лечения уровень иммуноглобулинов-G в крови собак первой и второй опытных групп составил соответственно 12,96±0,5 и 9,97±0,6 г/л. В первой опытной группе отмечено значительное увеличение в сравнении с фоновыми данными уровня иммуноглобулинов-G-на 38,61 %, тогда как во второй опытной группе их количество увеличилось только на 10,41 %, или меньше, чем в крови собак второй опытной группы на 28,20 % (рис. 9)



**Рис. 8** Уровень иммуноглобулинов М в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до лечения и после в г/л

Уровень  $CH_{50}$  в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп курации в фоновых исследованиях составил соответственно 49,54 ±1,0; 61,75±0,9 56,2±0,8 усл. ед. Количество комплемента в крови больных собак первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях было выше, чем в контрольной группе, соответственно на 24,64 и 13,56 % (рис. 10).



**Рис. 9.** Уровень иммуноглобулинов-G в крови собак до курации и после в г/л

Увеличение уровня комплемента в крови больных животных мы связываем с тем, что комплемент активно участвует в регуляции иммунных и воспалительных реакций, а так же связывает в больном организме инфицированные клетки. Уровень  $CH_{50}$  в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до курации в фоновых исследованиях составил соответственно 49,54 ±1,0, 61,75±0,9и 56,2±0,8усл. ед. Количество компле-



мента в крови больных собак первой и второй опытных групп в фоновых исследованиях было выше, чем в контрольной группе, соответственно на 24,64 и 13,56 %. После проведения лечебных мероприятий и выздоровления больных животных уровень комплемента в крови собак первой и второй опытных групп составил соответственно  $52,33 \pm 0,9$  и  $50,64 \pm 1,2$  усл. ед. Уровень комплемента при выздоровлении животных снижался в крови собак первой и второй опытных групп, в сравнении с фоновыми данными, соответственно на 15,25 и 9,89 %.

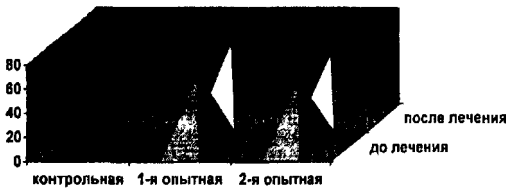


Рис. 10. Количество комплемента в крови собак до лечения и после

### **3.6. Биохимические показатели крови собак при чуме плотоядных до и после лечения**

Уровень общего белка сыворотки крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до начала лечения составил соответственно  $61,85 \pm 2,8$ ;  $57,64 \pm 3,5$  и  $56,19 \pm 2,6$  %. Полученные результаты исследования показывают, что в крови собак первой и второй опытных групп уровень общего белка был ниже, чем в крови здоровых животных, соответственно на 6,81 и 9,15 %. После выздоровления животных уровень общего белка в сыворотке крови собак первой и второй опытных групп увеличивался в сравнении с фоновыми данными, соответственно на 11,47 и 23,46 %. Количество альбуминов в сыворотке крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до лечения, составило, соответственно  $55,61 \pm 4,2$ ;  $60,13 \pm 3,4$  и  $59,46 \pm 3,1$  %. Показатель альбуминов в сыворотке крови собак опытных групп был выше, чем в контрольной группе, соответственно на 8,13 и 6,92 %. После выздоровления животных уровень альбуминов в крови собак первой и второй опытных групп составил, соответственно  $55,19 \pm 2,9$  и  $53,30 \pm 3,1$  %. Количество альбуминов в сравнении с фоновыми данными снижалось, соответственно на 8,21 и 10,36 %.

Уровень альфа-глобулинов в сыворотке крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до и после лечения составил, соответственно  $15,12 \pm 0,5$ ;  $13,91 \pm 1,1$ ;  $12,92$  и  $14,54 \pm 2,6$ ;  $12,61 \pm 1,0$  %. Приведенные результаты исследований показывают, что достоверных изменений в уровне альфа-глобулинов до и после лечения не установлено.

Количество бета-глобулинов в сыворотке крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до и после лечения составило, соответственно  $18,20 \pm 0,9$ ;  $15,90 \pm 0,6$ ;  $16,50 \pm 0,8$  и  $18,24 \pm 0,8$ ;  $20,55 \pm 0,6$  %. Наиболее

характерные изменения в уровне бета-глобулинов установлены в первой и второй опытных группах до лечения, где их количество было ниже, чем в сыворотке крови здоровых животных, соответственно на 12,64 и 9,3 %.

Уровень гамма-глобулинов в сыворотке крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до и после лечения составил, соответственно  $11,07 \pm 0,7$ ;  $10,06 \pm 0,4$ ;  $10,13 \pm 0,6$  и  $12,03 \pm 0,7$ ;  $13,54 \pm 0,9$ %. После выздоровления собак первой и второй опытных групп, уровень гамма-глобулинов увеличивался в сравнении с фоновыми данными, соответственно на 19,58 и 33,66 %.

Резервная щелочность в крови собак контрольной, первой и второй опытных групп до и после лечения составила, соответственно  $44,65 \pm 3,1$ ;  $30,18 \pm 2,3$ ;  $32,61 \pm 2,9$  и  $42,55 \pm 3,2$ ;  $46,11 \pm 3,4$  Об %  $CO_2$ . Уровень резервной щелочности до начала лечения в крови собак первой и второй опытных групп был ниже, чем в крови здоровых животных, соответственно на 32,40 и 26,96 %. После лечения больных животных уровень резервной щелочности в крови собак первой и второй опытных групп соответствовал норме.

#### **4. Выводы**

1. Лечение собак, больных чумой плотоядных, с применением метода ультрафиолетового облучения-аутокрови (УФО-аутокрови) и ронколейкина вызывает восстановление факторов иммунитета, животных нормализацию уровня Т-и В-лимфоцитов, количество которых в фоновых исследованиях, в крови больных собак составило, соответственно  $8,7 \pm 0,1$ ;  $8,12 \pm 0,2$  и  $16,30 \pm 0,05$ ;  $17,44 \pm 0,03$ . После выздоровления их количество составило, соответственно  $6,55 \pm 0,02$ ;  $5,93 \pm 0,3$  и  $13,12 \pm 0,04 \pm 14,04 \pm 0,02$  %. Соотношение Т-хелперов к Тсупрессорам в крови больных животных составило 0,82 и 1,03, свойственно иммунодефициту. После лечения этот показатель увеличился и составил, соответственно 1,01 и 1,20, что свидетельствует об устранении иммунного дефицита.

2. Сочетанное применение ронколейкина и УФО-аутокрови в составе средств комплексной терапии путем трехкратного внутривенного введения, в количестве 2,0 мл/кг массы животного оказывало хороший лечебный эффект, продолжительность болезни собак во второй опытной группе сокращалась на 4-5 дней.

3. Установлено, что применение ронколейкина и УФО-аутокрови способствует нормализации лейкоформулы крови собак, больных чумой плотоядных. Количество сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов в крови собак до лечения составило, соответственно  $70,26 \pm 2,1$ ;  $72,89 \pm 3,2$  и  $29,92 \pm 0,2$ ;  $32,94 \pm 0,3$  %, после лечения их количество снижалось и составило по группам  $59,40 \pm 1,8$ ;  $57,47 \pm 1,4$  и  $22,96 \pm 0,9$ ;  $25,03 \pm 0,3$  %, с усилением их фагоцитарной активности.

4. Количество лейкоцитов в крови больных собак в фоновых исследованиях составляло  $16,99 \pm 0,01$  и  $17,05 \pm 0,2$  %, после выздоровления их количество снижалось до  $12,56 \pm 0,02$  и  $11,36 \pm 0,01$  %, что соответствует нормативным показателям.

5. Высокая степень эффективности УФО-аутокрови и ронколейкина, при лечении собак, больных чумой плотоядных, подтверждается нормализацией уровня эозинофилов, моноцитов, исчезновением миелоцитов и юных нейтрофилов в периферической крови.

6. Количество секреторных Ig-A в сыворотке крови больных собак до лечения составило, соответственно  $3,9 \pm 0,2$  и  $2,24 \pm 0,2$  г/л, Ig M -  $2,30 \pm 0,4$  и  $1,41 \pm 0$  г/л; Ig G -  $9,35 \pm 0,4$  и  $9,03 \pm 0,3$  г/л. После лечения количество Ig-A составило  $2,86 \pm 0,4$  и  $2,99 \pm 0,01$  г/л; Ig M -  $2,63 \pm 0,3$  и  $1,37 \pm 0,01$ ; Ig -  $12,96 \pm 0,5$  и  $9,97 \pm 0,6$  г/л. Более интенсивно нормализация уровня секреторных Ig-A; M и Ig G происходила во второй опытной группе.

7. Применение в составе средств комплексной терапии УФО-аутокрови и ронколейкина обусловило нормализацию содержания белка: уровень общего белка в сыворотке крови собак первой и второй опытных групп до лечения составлял  $57,64 \pm 3,5$  и  $56,19 \pm 2,6\%$ ; после лечения количество общего белка увеличивалось соответственно до  $72,36 \pm 2,0$  и  $76,85 \pm 1,7\%$

8. В белковых фракциях сыворотки крови собак первой и второй опытных групп достоверных изменений количества альбуминов, альфа и бета-глобулинов не установлено. Количество гамма-глобулинов до лечения было низким и составляло, соответственно  $10,06 \pm 0,4$  и  $10,13 \pm 0,6\%$ . После лечения их количество увеличивалось на 24,45 и 39,78 %.

9. Показатели резервной щелочности в крови собак обеих групп до лечения были ниже нормы и составляла, соответственно  $30,18 \pm 2,3$  и  $32,61 \pm 2,9$  06 %  $CO_2$ . После лечения уровень резервной щелочности увеличился до  $51,62 \pm 2,1$  и  $53,30 \pm 1,9$  06 %  $CO_2$ .

#### **Практические рекомендации**

1. Больным животным необходимо применять УФО-аутокровь в количестве 2 мл/кг после облучения ее в кювете из кварцевого стекла в аппарате «Фотон» или «Изольда М-73» с дозой облучения  $640 \pm 40$  Дж/м<sup>2</sup>. Введение больным животным облученной крови необходимо проводить не менее трех раз, ежедневно или через день. Иммуномодулятор ронколейкин вводить двукратно подкожно в дозе 10 000 МЕ/кг с интервалом 24 часа. В состав средств комплексной терапии необходимо вводить препараты сердечные, пробиотики, витамины, антибиотики в лечебных дозах.

2. Владельцам животных строго соблюдать сроки вакцинации, осуществлять контроль за организацией выгульных площадок и дворики, не допускать контакт с бродячими животными.

3. Материалы диссертации используются в учебном процессе в ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины»

**Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Машадиева В.В. Фототерапия в медицине и ветеринарии. / Шагиахметов Ю.С. // Международная академия аграрного образования Костанайский филиал МАЛО Костанайский инженерно-экономический университет им. М. Дулатова. /Журнал, «Наука»2003.- №1.-2003- С. 86-85.

2. Машадиева В.В. Эффективность средств комплексной терапии при лечении кишечной формы чумы плотоядных. /Шагиахметов Ю.С. // Международная академия аграрного образования Костанайский филиал МААО Костанайский инженерно-экономический университет им. М. Дулатова. /Журнал, «Наука».-2004.- № 4.- С. 35-36.

3. Машадиева В.В., Эффективность аутоультрафиолетового облучения крови (АУФОК) в составе средств комплексной терапии при чуме плотоядных. /Шагиахметов Ю.С. // Перспективные направления научных исследований молодых ученых Урала и Сибири./Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции(17-19 ноября 2004 г.). -С. 75-76.

4. Машадиева В.В. Уровень иммуноглобулинов А, М и G при чуме плотоядных. /Шагиахметов Ю.С. //Международная академия аграрного образования Костанайский филиал МААО Костанайский инженерно-экономический университет им. М. Дулатова. /Журнал, «Наука».-2005.- № 4.-С. 57-58.

5. Машадиева В.В. «Временное наставление» по применению аутоультрафиолетового облучения крови (АУФОК) в ветеринарии (в порядке широкого производственного испытания до 01. 01.2007 г. / Шагиахметов Ю.С.//Троицк,-5с.

6. Машадиева В.В. Динамика Тх и Тс лимфоцитов при чуме плотоядных. /Шагиахметов Ю.С. // Матер. Международной НПК по перспективным направлениям научных исследований молодых ученых Урала и Сибири. - Троицк: УГАВМ. - 2004. - С. 46.

7. Машадиева В.В. Эффективность АУФОК в составе средств комплексной терапии при чуме собак. /Шагиахметов Ю.С. // Матер. Международной НПК по актуальным проблемам ветеринарной медицины, посвященной 75-летию УГАВМ. - Троицк, 2005. - С. 85.

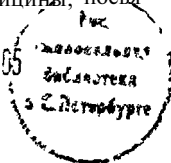
Отпечатанов ООО «Печатный двор»  
г. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207  
Тел 72-74-59, 41-76-41, 41-76-51.

Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.01

Выдана Поволжским межрегиональным  
территориальным управлением МПТР РФ  
Подписано в печать 23.05.2005г. Усл. пл 1,0.

Заказ №К-2962 Тираж 100 экз Формат 60х84/16.  
Бумага офсетная Печать - ризография

13 ИЮЛ 2005



639