

УДК 575:57.022:57.042

ВПЛИВ ГЕНОТИПУ НА ПРИСТОСОВАНІСТЬ ДРОЗОФІЛИ ПРИ ДІЇ МАЛИХ ДОЗ НАДВИСОКОЧАСТОТНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Горенська О. В. , Гаврилов А. Б. , Шкорбатов Ю. Г. , Катрич В. А.

Резюме. У роботі вивчалась дія низькоінтенсивного надвисокочастотного електромагнітного випромінювання на реальну плодючість, життєздатність і пристосованість (відносно ефективності розмноження) у дрозозфіли. Показано, що дія викликає стимулюючий, але залежний від генотипу ефект. Лінія із заміщеним генотипом виявилася стійкішою до дії досліджуваного чинника, ніж лінії Canton-S і black.

Ключові слова: надвисокочастотне електромагнітне випромінювання, пристосованість, генотип, дрозозфіла.

UDC 575:57.022:57.042

INFLUENCE of GENOTYPE on VIABILITY of DROSOPHILA UNDER SMALL DOSES of MICROWAVE RADIATION

Gorenskaya O. V. , Gavrilov A. B. , Shkorbatov Y. G. , Katrich V. A.

Summary. Influence of microwaves radiation on real fecundity, viability and fitness (relative efficiency of reproduction) in *Drosophila melanogaster* was studied. It is shown, that influence renders a stimulant, but dependency upon the genotype effect. A line with substituted genotype appeared more steady to the explored influence, what lines of Canton-S and black.

Key words: microwave radiation, viability, genotype, drosophila.

Стаття надійшла 26. 02. 2010 р.

УДК 636.52/.58:611.013:612.017:576.3.

В. Г. Кузнецова, Г. Ф. Жегунов

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ КУР НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ И СЕРДЦЕ КРЫС

Харьковская государственная зооветеринарная академия (г. Харьков)

Данная работа выполнена в рамках темы «Экспериментальное обоснование и разработка методов криоконсервирования клеток и тканей домашних и сельскохозяйственных животных, а также разработка методов получения криоэкстрактов из эмбриональных тканей животных и изучение их биологической активности», № государственной регистрации 0104U009818.

Вступление. В настоящее время в ветеринарной практике приобретает все большее значение применение иммуностимуляторов, в частности при лечении и для профилактики хронических и вирусных болезней, а также снятия поствакцинальных реакций организма животных [5]. Остро стоит проблема профилактики и борьбы с массовыми болезнями животных, обусловленными вторичными иммунодефицитами различного

происхождения, широким распространением латентного вирусного носительства, нарушением обменных процессов, ослабляющих иммунный статус организма [6]. Это обуславливает необходимость разработки новых препаратов, обладающих этиотропным противовирусным действием и корректирующих иммунный статус организма [6, 10].

Введение таких препаратов в комплексные схемы антибиотикотерапии значительно влияет на ее эффективность. Так при использовании натрия нуклеата ее эффективность повышается на 40-50% [11], а применение сальмозана в качестве фактора неспецифической защиты организма приводит к увеличению индекса резистентности [5]. Используются иммуностимуляторы бактериальной природы (прогидрозан) [6] и широкий спектр

препаратов из тимуса (тимозин, тимоген, Т-активин и др.) [2].

Недостатком таких препаратов является многостадийность и сложность их получения. К тому же иммуностимуляторы бактериальной природы имеют широкий спектр противопоказаний и побочных действий (развитие аллергических реакций, болезненность и отеки в месте введения и так далее) [4].

Одним из источников получения таких препаратов могут служить эмбрионы кур. В этом случае положительным моментом является доступность, дешевизна и экологическая чистота сырьевых ресурсов [5]. Проведенные в последние годы исследования показали, что эмбриональные клетки обладают и иммунорегуляторным действием [1]. При этом на начальных стадиях развития эмбриональные клетки не обладают полным набором антигенов, а также недостаточно зрелы, чтобы атаковать хозяина [9, 10].

Целью нашей работы было получение различных экстрактов из эмбрионов кур, определение их иммуностимулирующего действия, а также изучение влияния таких экстрактов на сократительные свойства миокарда крыс.

Объект и методы исследования. Исследования проводили на белых беспородных крысах. У животных моделировали лейкопению путем внутримышечного введения 0, 005 мл на 1 г массы тела стандартного фармакопейного препарата гидрокортизона ацетат. Забор крови производили на вторые сутки из хвостовой вены экспериментальных животных. Оценку активности экстрактов проводили путем подсчета количества лейкоцитов в камере Горяева [8] и на мазках, приготовленных по методу Романовского [8]. Исследуемые экстракты животным вводили внутримышечно спустя 24 ч после развития лейкопении по 0, 004 мл на 1 г массы тела животного. Количество лейкоцитов в крови животных определяли в течение 13 суток. Для контроля использовали изотонический раствор хлористого натрия и масло.

Получали четыре варианта экстрактов. После выемки яиц из инкубатора эмбрионы извлекали из скорлупы, освобождали от оболочек и отмывали изотоническим раствором хлористого натрия (рН 7, 4). Далее эмбрионы взвешивали и разделяли на 2 группы. Первую группу гомогенизировали 5 мин на фосфатном буфере (рН 7, 4) и изотоническом растворе хлористого натрия (1:1). Гомогенат центрифугировали при 3 000 об/мин (экстракт 1) и при 10 000 об/мин при температуре 4°C (экстракт 2). Надосадки фильтровали и хранили при температуре -196°C до применения.

Вторую группу эмбрионов сначала дважды замораживали в жидком азоте (-196°C) с последующим размораживанием на водяной бане при температуре 37-40°C. Далее эмбрионы гомогенизировали, центрифугировали и хранили, как описано выше (экстракты 3 и 4).

Для осаждения белков из исследуемых экстрактов их нагревали на водяной бане при температуре 70°C в течение 7 мин до появления белого хлопьевидного осадка. Затем центрифугировали при 3000 об/мин 10 мин, надосадки фильтровали.

Экстракцию липидов проводили по методу Фолча с соавт. (1951, 1957) и по методу Спери (1954) [4].

Для изучения влияния исследуемых экстрактов на сердечную деятельность крыс применяли метод электрокардиографического исследования [3, 7]. Животных наркотизировали с применением медицинского эфира.

ЭКГ регистрировали во втором стандартном отведении. Анализируя кривые ЭКГ рассчитывали длительность интервалов от начала волны Р до начала зубца Q (время проведения возбуждения от предсердия до желудочков), от начала сегмента Р до его окончания (время распространения возбуждения по предсердию, а также время деполяризации предсердия), от начала зубца Q до конца волны S (время деполяризации желудочков), от начала зубца Q до конца волны Т (длительность электрической систолы желудочков), от начала волны Т до ее окончания (время реполяризации миоцитов желудочков), от начала зубца Q до начала зубца Р следующего цикла (электрическая диастола предсердий), от конца волны Т до начала зубца Q следующего цикла (электрическая диастола желудочков), от конца волны Т до начала волны Р следующего цикла (время общей диастолы миокарда), и интервал RR (длительность сердечного цикла) [3]. На протяжении курса инъекций регистрировали ЭКГ на первые, вторые, пятые и десятые сутки эксперимента.

Результаты исследований и их обсуждение. На рис. 1 представлены данные о влиянии цельных экстрактов на скорость восстановления количества лейкоцитов в крови животных с экспериментальной лейкопенией.

Было установлено, что биологически активные вещества из гомогенатов эмбрионов обладают выраженным иммуностимулирующим действием. После введения крысам криоэкстрактов 3 и 4 отмечались более глубокие изменения в крови животных. Количество лейкоцитов восстанавливалось до средних показателей нормы на 5-6 сутки эксперимента. При введении животным экстрактов,

не подвергавшихся замораживанию (1 и 2), эффект развивался также быстро, однако восстановление количества лейкоцитарных клеток происходило на 7 день эксперимента. Можно предположить, что замораживание способствует высвобождению молекул, которые несколько повышают иммуностимулирующую активность и эффективность экстрактов. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество изотонического раствора хлористого натрия. Восстановление количества клеток проходило медленно и приходило в норму к 8 дню эксперимента. Таким образом, биологически активные вещества эмбриональных экстрактов тканей кур оказывают стимулирующее влияние на функционирование иммунной системы животных, в частности эффективно восстанавливают лейкоциты при лечении экспериментальной лейкопении.

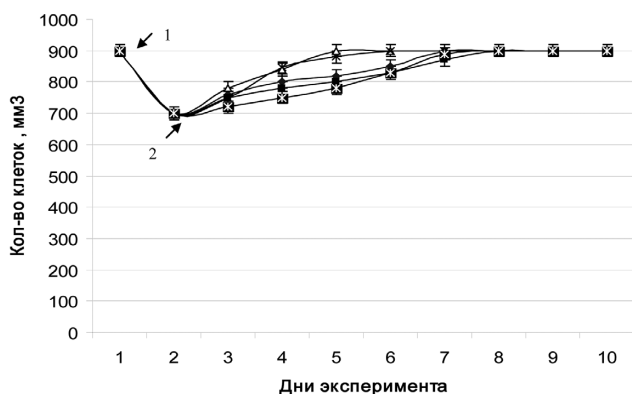


Рис. 1. Динамика восстановления лейкоцитов в крови животных, после введения экстрактов:
 —▲— экстракт 1;
 —■— экстракт 2;
 —△— экстракт 3;
 —*— экстракт 4;
 —□— изотонический NaCl.
 1 → - введение гидрокортизона натрия;
 2 → - введение экстрактов.

На рисунке 2 представлены данные о влиянии безбелковых экстрактов из эмбриональных тканей кур на крыс с экспериментальной лейкопенией.

Уже на первые сутки после введения экстрактов мы наблюдали повышение количества лейкоцитов в крови животных у всех экспериментальных групп животных. Далее у животных, которым вводили экстракты, не подвергавшиеся замораживанию (1, 2) наблюдалось увеличение количества лейкоцитарных клеток до шестых суток даже выше нормы, а затем восстановилось до нормы на 8 сутки эксперимента. У животных, которым вводили экстракты 3 и 4, увеличение коли-

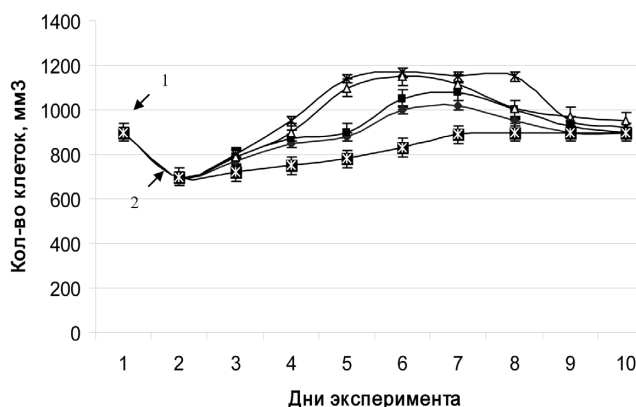


Рис. 2. Динамика восстановления лейкоцитов в крови животных, после введения безбелковых экстрактов:
 —▲— экстракт 1;
 —■— экстракт 2;
 —△— экстракт 3;
 —*— экстракт 4;
 —□— изотонический NaCl.
 1 → - введение гидрокортизона натрия;
 2 → - введение экстрактов

чества лейкоцитов продолжалось до 5 дня эксперимента. После этого число лейкоцитов было постоянным до 7 и 8 дней, а затем постепенно понижалось и восстанавливалось до нормы к 10 суткам эксперимента. Нами было установлено, что после удаления белков из исследуемых экстрактов их эффективность повышалась, о чем свидетельствует повышение лейкоцитов до более высоких показателей. Можно предположить, что после осаждения белков понижается и иммуногенность экстрактов, что приводит к повышению их эффективности. Более выраженным иммуностимулирующим действием обладают криоэкстракты 3 и 4.

На рис. 3 представлены данные после введения экспериментальным животным гидрофобных фракций исследуемых экстрактов.

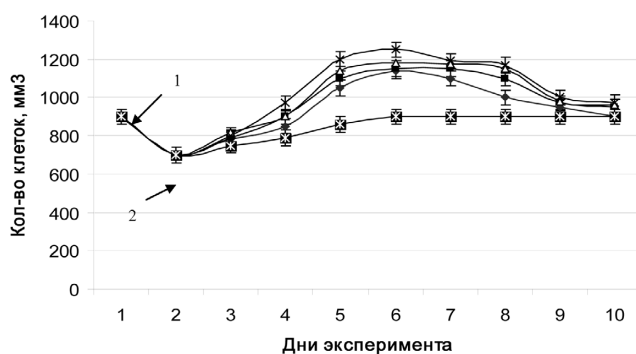


Рис. 3. Динамика восстановления лейкоцитов в крови животных, после введения гидрофобных фракций экстрактов:
 —▲— экстракт 1;
 —■— экстракт 2;

- ▲— - екстракт 3;
- ▼— - екстракт 4;
- - масло.
- 1 → - введение гидрокортизона натрия;
- 2 → - введение экстрактов.

Было установлено, что гидрофобные фракции не только сохраняют иммуностимулирующее действие, но и являются более эффективными по отношению к цельным и безбелковым экстрактам. На первые сутки после введения липидосодержащих экстрак-

тов наблюдался рост количества лейкоцитов. На пятые сутки эксперимента количество лейкоцитарных клеток постепенно уменьшалось и восстанавливалось до нормы на 10 сутки. Более эффективными в этом случае оказались экстракты, подвергавшиеся замораживанию (экстракты 3 и 4).

Для выявления кардиологических свойств исследуемых препаратов было изучено их действие на сократительную работу миокарда. В **таблице 1** представлены данные ЭКГ крыс после введения им экстракта 1.

Таблица 1

Динамика изменения сократительной способности миокарда крыс после введения им экстракта 1

Интервал	PQ	QRS	QP	RR	QT	TQ	TP
День эксперимента							
Норма, 1 день	0,046±0,0007	0,02±0,0003	0,140±0,006	0,185±0,007	0,081±0,0003	0,098±0,006	0,061±0,006
Лейкопения, 2 день	0,048±0,0005	0,018±0,0005	0,142±0,004	0,182±0,009	0,078±0,0006	0,02±0,004	0,059±0,005
Введение экстракта, 3 день	0,044±0,0005	0,025±0,0035	0,139±0,007	0,183±0,005	0,08±0,0004	0,097±0,0032	0,061±0,006
Введение экстракта, 5 день	0,045±0,0004	0,02±0,0003	0,141±0,005	0,183±0,008	0,082±0,0004	0,096±0,008	0,061±0,0006
Введение экстракта, 10 день	0,043±0,0004	0,021±0,00031	0,141±0,005	0,184±0,007	0,08±0,0004	0,097±0,007	0,062±0,0005

Проверялись наиболее эффективные дозы исследуемых экстрактов. Так в наших экспериментах контрольная группа животных в нормальных условиях имела следующие показатели ЭКГ. Зубец P всегда положителен, его длительность 0,012±0,004 с. Интервал PQ равен 0,046±0,0007 с. Интервал ST у белых крыс отсутствует, и если на ЭКГ отмечается зубец S, то он сразу же переходит в зубец T. Зубец T всегда положителен, почти не уступает амплитуде зубца R. Продолжительность зубца T равна 0,068±0,005 с. Длительность интервала QRS - 0,02±0,0003

с. Продолжительность интервала QP, RR, QT, TQ, TP равны соответственно 0,140±0,006, 0,185±0,007, 0,081±0,0003, 0,098±0,006, 0,061±0,006 с. Полученные нами результаты полностью соответствуют данным литературы [3, 7].

Установлено, что в течение эксперимента показатели сократительной способности миокарда крыс достоверно не изменялись.

В **таблице 2** представлены данные после ЭКГ исследования сократительной способности миокарда животных, после введения им криоэкстракта 3.

Таблица 2

Динамика изменения сократительной способности миокарда крыс после введения им криоэкстракта 3

Интервал	PQ	QRS	QP	RR	QT	TQ	TP
День эксперимента							
Норма, 1 день	0,045±0,0004	0,02±0,0003	0,141±0,005	0,183±0,008	0,082±0,0004	0,096±0,008	0,061±0,0006
Лейкопения, 2 день	0,048±0,0005	0,018±0,0005	0,142±0,004	0,182±0,009	0,078±0,0006	0,097±0,007	0,062±0,0005
Введение экстракта, 3 день	0,043±0,0004	0,021±0,00031	0,141±0,005	0,184±0,007	0,078±0,0006	0,02±0,004	0,059±0,005
Введение экстракта, 5 день	0,045±0,0004	0,02±0,0003	0,141±0,005	0,182±0,009	0,082±0,0004	0,096±0,008	0,061±0,0006
Введение экстрактов, 10 день	0,048±0,0005	0,018±0,0005	0,142±0,004	0,183±0,008	0,08±0,0004	0,02±0,004	0,059±0,005

При анализе литературных данных, относительно влияния тканевых препаратов на сократительные способности миокарда, отмечено, что препараты из эмбриональных и фетальных тканей не оказывают влияния на работу сердца экспериментальных животных [3, 7, 10]. В нашей работе мы установили, что экстракты из эмбриональных тканей кур оказывают иммуномодулирующее действие, однако не влияют на интегральные показатели животных. В частности можно отметить, что эмбриональные экстракты являются безопасными для введения животным в качестве иммуномодулирующего средства.

Выводы.

1. При введении исходных экстрактов из эмбриональных тканей кур мы установили, что криоэкстракты (экстракты 3 и 4) более эффективны, чем экстракты, не подвергавшиеся замораживанию (экстракты 1 и 2). Однако все они проявляют иммуностимулирующее действие.

2. При введении экспериментальным животным безбелковых экстрактов и их гидрофобных фракций мы наблюдаем увеличение иммуностимулирующего эффекта.

3. Гидрофобные фракции экстрактов проявляют наиболее высокую активность по сравнению с цельными и безбелковыми экстрактами.

4. Исследуемые экстракты, вводимые в наиболее эффективных концентрациях, не оказывают влияния на сократительную способность миокарда крыс.

Перспективы дальнейших исследований.

Таким образом, применение экстрактов из эмбриональных тканей кур в ветеринарной практике может значительно облегчить лечение различных заболеваний иммунной систе-

мы животных, а также может с успехом использоваться для снятия поствакцинальных реакций. Изучение свойств эмбриональных тканей и разработка на их основе новых лекарственных препаратов является перспективным направлением исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гемопоэтические клетки эмбриональной печени / [Грищенко В. И., Лобынцева Г. С., Вотякова И. А., Шерешков С. И.] - Киев. : Наук. Думка, 1988. - 192 с.
2. Глотов А. Г. О некоторых механизмах иммуномодулирующего действия вестина и фагостина при ИРТ крупного рогатого скота / А. Г. Глотов, Ю. С. Аликин, А. В. Нефедченко и др // Пробл. стабилизации и развития сел. хоз-ва Казахстана, Сибири и Монголии. - Новосибирск, 2000. - С. 159.
3. Лабораторные животные / [Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В.]. - К. : Высшая школа, 1983 - 383 с.
4. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): [учеб. пособие / под ред. М. И. Прохоровой]. - Л. : изд-во Ленингр. ун-та, 1982. - 272 с.
5. Мысачева В. И. Влияние препаратов на основе эмбриональных тканей кур на иммунную систему / В. И. Мысачева, В. В. Хомов, А. А. Сизов и др. // Ветеринария. - 1995. - №11. - С. 46-47.
6. Растунова Г. А. Прогидрозан как активатор перитонеальных макрофагов / Г. А. Растунова, Э. Г. Щербакова, И. С. Круглова // Антибиотики. - 1981. - №6. С. 524-544.
7. Романец С. М. Влияние гипотермии и кардиотропных препаратов на сердечный ритм и состояние β -адренорецепторов миокарда у крыс: дис. . . . кандидата биологических наук: 03. 00. 22 / Романец Светлана Михайловна. - Харьков, 1997. - 96 с.
8. Сахаров П. П. Лабораторные животные / П. П. Сахаров, А. И. Метелкин, Е. И. Гудкова - М. : Медгиз, 1952. - С. 283.
9. Суббота Н. П. Проблемы современной биологической медицины / Н. П. Суббота // Проблемы криобиологии. - 1997. - Вып. 4. - С. 3-14.
10. Филатов В. П. Консервирование по Филатову / В. П. Филатов // Монография. - М. : Медгиз, 1954. - С. 156.
11. Low T. L. K. Spinder Semin / T. L. K. Low, A. L. Goldstein // Immunopathol. - 1979. - №2. - P. 169-186.

УДК 636.52/.58:611.013:612.017:576.3.

ВПЛИВ РІЗНИХ ЕКСТРАКТИВ ІЗ ЕМБРІОНАЛЬНИХ ТКАНИН КУРЕЙ НА ІМУННУ СИСТЕМУ ТА СЕРЦЕ ЩУРІВ

Кузнецова В. Г., Жегунов Г. Ф.

Резюме. Отримували екстракти з ембріонів курей. Вивчали дію екстрактів на щурів з експериментальною лейкопенією. Спостерігали відновлення кількості лейкоцитів крові після введення екстрактів. Встановлено, що криоекстракти мають більш виражену та подовжену дію, ніж екстракти, що не заморожували. Після ізоляції білків ефективність екстрактів зростала. Після введення гідрофобної фракції досліджуваних екстрактів спостерігали високу імуномодулюючу активність. Встановлено, що екстракти не впливають на серцеву діяльність щурів.

Ключові слова: ембріони курей, екстракти, криоконсервування, лейкопенія.

UDC 636.52/.58:611.013:612.017:576.3.

INVESTIGATION OF IMMUNOGEN EFFECT OF CHICKEN EMBRYOS EXTRACTS

Kuznetsova V. G., Zhegunov G. F.

Summary. In our study we have received the extracts from chicken embryos and investigate their action on rats with experimental leucopenia. It was observe restoration of the leukocytes quantity in blood after introduction of extracts. It was establish, that cryoextracts have more expressed and prolonged action, than not frozen extracts. After proteins isolation the extracts efficiency was increase. After introduction of the lipid fraction in the received extracts the highest immunostimulating activity was shown. There was no expect effect after introduction the fraction without lipids. It is set that extracts do not influence on cardiac activity of rats.

Key words: chickens embryos, extracts, cryopreservation, leucopenia.

Стаття надійшла 2. 02. 2010 р.