Таким чином відбувається захист клітинних популяцій від накопичення клітин із генетичними порушеннями, що перешкоджають нормальному їх функціонуванню.

У тварин дослідної групи відмічали статистично вищі значення частоти асинхронного розходження центромерних районів хромосом і відсотку хромосомних фрагментів. Різниця з контролем достовірна $p<0,05$.

Висновки. 1. У результаті порівняльного аналізу ефективності використання різних методів діагностики анаплазмозу коней встановлено, що світлова мікроскопія дає змогу швидко визначити наявність збудника в організмі, але її точність знаходиться у прямій залежності від якості виготовлених мазків. Електронна мікроскопія особливо інформативна при змішаній інвазії, але відсутність обладнання, кваліфікованого персоналу і значна вартість робіт не дозволяє широко застосовувати цей метод у практиці лікаря ветеринарної медицини. Найбільш високоефективним серед описаних методів виявився ІФА завдяки можливості кількісного визначення, високій чутливості і комерційній доступності.

2. У крові від хворих коней, анаплазми виявляли у вигляді рожево-фіолетових крапкоподібних включень округлої або овальної форми. Спостерігали високий титр антитіл у крові як хворих, так і перехворілих коней. Що свідчить про гострий перебіг або загострення процесу у хворих коней і реінвазію без видимих клінічних ознак у перехворілих тварин.

3. У периферичній крові виявлено вірогідне підвищення кількості лімфоцитів з мікроядрами, апоптозних клітин та відсотку хромосомних фрагментів порівняно із контролем. Це свідчить про інфекційно обумовлену дестабілізацію геному тварин за анаплазмозної інвазії.

Перспективи подальших досліджень. Актуальним є подальше вивчення епізоотології, патогенезу, розробки заходів боротьби з анаплазмозом коней. Випробовувати і залучати в практику молекулярно-генетичні методи діагностики родової і видової приналежності збудників кровопаразитарних хвороб коней, що базуються на полімеразно-ланцюговій реакції (ПЛР).

Список літератури

1. Абрамов, И.В. Анаплазмозы животных / И.В. Абрамов, Н.И. Степанова, Л.П. Дьяконов. – Москва : Колос, 1965. – 240 с. **2.** Акбаев, М.Ш. Паразитология и инвазионные болезни животных / М.Ш. Акбаев, А.А. Водянов, Н.Е. Косминков и др. – М.: Колос, 2000. – 743 с.: ил. **3.** Атлас анатомии простейших, патогенных для человека и животных / Авакян А.А. – М: Медицина, 1976. – 311 с. **4.** Галатюк, О.Є. Заразні хвороби коней / О.Є Галатюк. – Житомир : Волинь, 2003. – 280 с. **5**. Петешев, В.М. Анаплазмы и анаплазмоз овец / В.М. Петешев. − Алма-Аты : Наука, 1975. − 237 с. **6.** Самуилов, В.Д. Иммуноферментный анализ / В.Д. Самуилов // Соросовский образовательный журнал. – 1999. − №12. − С. 9-15 **7.** Шельов, А.В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин : зб. наукових праць / А.В. Шельов, В. В. Дзіцюк // Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві : наук. зб. — К., 2005. — С. 210−213 **8.** Dumler, J.S., Reorganization of genera in families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophilum / A.F. Barbet, C.P. Bekker, J.S. Dumler // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001. V. 51. P. 2145 − 2165

DIAGNOSIS OF ANAPLASMOSIS OF HORSES AND CYTOGENETIC DISORDERS OF THEIR ORGANISM AT INVASION BY HEMATOZOONS

Prus M.P.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

Perehinyak N.S.

Poltava Experimental Station, Institute of Veterinary Medicine NAAS, Kyiv

Dzhus P.P.

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS, v. Chubinskoe, Poltava

For the first time in Ukraine, there was established distribution, and clinical signs of anaplasmosis of horses. A comparison of diagnostic methods for anaplasmosis of horses has been carried out, and cytogenetic changes in the cells of their blood at this invasion have been studied. At this disease there was observed a high titer of antibodies in the blood of both diseased and convalescent animals. In blood smears from diseased horses, anaplasma were found as a pink-purple point inclusions of round or oval form.

УДК 619:577.121:619:617.57:636.7

МАРКЕРИ МЕТАБОЛІЗМУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА ПЕРЕЛОМІВ ТРУБЧАСТИХ КІСТОК У СОБАК

Рубленко М.В., Єрошенко О.В.

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква

Найбільш поширеними та складними наслідками травм є переломи, серед яких за анатомо-топографічною локалізацією – переломи трубчастих кісток стегна, плеча, гомілки і передпліччя, які складають близько 85 % [1]. Переломи чи будь-яка травма кісток призводять не тільки до порушення цілісності кісткової тканини, а й зумовлюють різного ступеня пошкодження кровоносних судин, м'язів, зв'язок, сухожилків нервово-судинних пучків, суглобово-зв'язкового апарата [2].

Загоєння переломів є особливою формою запально-репаративного процесу, що характеризується диференціюванням клітин їх проліферацією, ремоделюванням новоутвореної кісткової тканини, формуванням органічного позаклітинного матриксу та його мінералізацією [3].

Водночас, науковці та практики значну увагу приділяють технічним питанням забезпечення умов сприятливого перебігу репаративного остеогенезу [2, 4, 5], тоді як патохімічна фаза цього процесу, залишається недостатньо вивченою, що обмежує можливості об'єктивної його фармакологічної корекції.

При цьому головну перевагу дослідники надають вивченню балансу в крові Ca, P, активності лужної фосфатази, останнім часом іншим мікроелементам (Mn, Mg) [2]. Проте доведено [6], що стан мінерального обміну може мати патогномонічне та діагностично-прогностичне значення лише при визначенні його показників у біоптатах кісткових регенератів.

Водночас, патогенетична оцінка запального компоненту та його корекція взагалі не береться до уваги, тоді як нещодавно була встановлена патогенетична роль макроциркуляторного гемостазу, фібринолізу та протеолізу в перебігу репаративного остеогенезу після остеосинтезу [7], закономірності динаміки концентрації білків гострої фази в сироватці крові собак за переломів кісток залежно від фаз запального процесу та стадій репаративного остеогенезу [8].

Структурними елементами сполучної тканини є зв'язані з білком гексози, глікопротеїни і глікозаміноглікани, які вважаються достатньо інформативними маркерами обміну сполучної тканини [3]. У зв'язку з цим вони можуть бути біохімічними критеріями стану регенерації кісткової тканини.

У ветеринарній хірургії показники обміну сполучної тканини вивчали за гнійних артритів у свиней [9] та асептичних у молодняка великої рогатої худоби [10], за кістково-хрящової патології [11, 12] та гнійно-некротичних процесів у ділянці пальців у високопродуктивних корів [13], у післяопераційний період при різних методах оваріогістероектомії та інших абдомінальних операціях у сук та свинок [14-17]. Поряд з цим стан показників обміну сполучної тканини за переломів кісток у собак мало вивчений, тоді як це може мати діагностично-прогностичне та патогенетичне значення.

Мета роботи – вивчення динаміки маркерів сполучної тканини на різних стадіях репаративного остеогенезу за переломів довгих трубчастих кісток у собак.

Матеріали та методи. Роботу виконували на собаках із спонтанними діафізарними переломами стегнової кістки (n=5) – перша дослідна група, та кісток передпліччя (n=5) – друга дослідна група, які надходили у хірургічну клініку Білоцерківського НАУ. Контрольними були клінічно здорові собаки (n=10), які підлягали обстеженню у зв'язку із плановою диспансеризацією. Діагноз на перелом кісток встановлювали за сукупністю клінічних та рентгенологічних ознак.

Тваринам першої дослідної групі після загального ацепромазин-кетамінового наркозу та місцевого знеболювання проводили інтрамедулярний остеосинтез із використанням титанових штифтів. Тваринам другої дослідної групи після репозиції кісткових уламків накладали гіпсову пов'язку. За тваринами вели клінічні спостереження та рентгенологічний контроль. У післяопераційний період тваринам проводили антибіотикотерапію цефазоліном у загально прийнятих дозах протягом 7 днів.

Проби крові відбирали через 6, 12 та 24 години після травми, а також на 3-ю, 10-ту 30-ту та 60-ту добу після операції. У сироватці крові фракційним методом за Н.В. Нєвєровим та Н.І. Титаренко визначали вміст гексоз, з'єднаних із білками (ЗГ), глікопротеїнів (ГП) і глікозаміногліканів (ГАГ) [18].

Результати досліджень та обговорення. За результатами проведених досліджень (таблиця) у тварин із переломами як стегнової, так і кісток передпліччя спостерігали тенденцію до збільшення кількості метаболітів сполучнотканинного обміну, починаючи вже через 6 годин після травмування. У собак першої дослідної групи через добу після травмування відмічали вірогідне збільшення вмісту в сироватці крові загальних гексоз до 1,32±0,08 г/л (p<0,001) та ГП до 1,0±0,06 г/л (p<0,001), порівняно із таким у клінічно здорових тварин – 0,9±0,04 г/л та 0,63±0,04 г/л, відповідно. Вірогідної різниці між показниками ГАГ в цей період не встановлено, але спостерігалася тенденція до їх збільшення.

У собак другої дослідної групи ситуація виявилась іншою. Вміст загальних гексоз (1,16±0,08 г/л, p<0,001) та ГП (0,9±0,07 г/л, p<0,001) вірогідно збільшувався вже через 6 годин після травмування і залишався практично без змін протягом доби. Водночас уміст у сироватці крові ГАГ в доопераційний період у тварин цієї групи істотно не змінювався.

В подальшому у собак з переломами стегнової кістки на 3-ю добу після операції вміст у сироватці крові загальних гексоз досяг рівня 1,32±0,08 г/л (p<0,001), а ГП – 0,97±0,05 г/л (p<0,001). При цьому зберігалася стійка тенденція до збільшення вмісту ГАГ – 0,35±0,03 г/л, за показника контрольних тварин – 0,27±0,04 г/л. У собак з переломами кісток передпліччя на 3-ю добу після накладання гіпсової пов'язки встановлені найвищі за весь період дослідження показники загальних гексоз – 1,54±0,09 г/л (p<0,001), ГП – 1,19±0,09, та ГАГ – 0,35±0,03 г/л. Отже, підвищення рівня гексоз, зв'язаних з білками, у пік запальної реакції пов'язане із збільшенням частки гексоз глікопротеїнів, до складу яких входять такі гострофазні білки як гаптоглобін, церулоплазмін, фібриноген та ін. [15].

Таблиця – Динаміка метаболітів сполучної тканини у собак за переломів трубчастих кісток

Термін дослідження			**Загальні гексози**	**Глікопротеїни**	**Глікозаміноглікани**
Клінічно здорові тварини г/л (n=10)			**0,90±0,04**	**0,63±0,04**	**0,27±0,04**
Перша дослідна група, собаки з переломами стегнової кістки г/л (n=5)	Після травми	6 годин	1,03±0,1	0,72±0,08	0,31±0,04
		12 годин	1,05±0,07	0,72±0,06	0,33±0,01
		24 години	1,32±0,09***	1,0±0,06***	0,32±0,04
	Після операції	3 доба	1,32±0,08***	0,97±0,05***	0,35±0,03
		10 доба	1,51±0,12***•	1,14±0,1***	0,37±0,03
		30 доба	1,11±0,04**	0,8±0,01**	0,31±0,03
		60 доба	1,35±0,07***•	1,1±0,09***•	0,34±0,04
Друга дослідна група, собаки з переломами кісток передпліччя г/л (n=5)	Після травми	6 годин	1,16±0,08*	0,9±0,07**	0,26±0,01
		12 годин	1,14±0,06**	0,89±0,7**	0,25±0,05
		24 години	1,1±0,04**	0,83±0,06*	0,28±0,02
	Після накладання гіпсової пов'язки	3 доба	1,54±0,09***	1,19±0,09***	0,35±0,03
		10 доба	1,18±0,02***	0,93±0,04***	0,25±0,03
		30 доба	1,08±0,03**	0,82±0,03**	0,26±0,03
		60 доба	1,13±0,05**	0,83±0,04**	0,3±0,03

Примітки: *1)* – (p<0,05); ** – (p<0,01); *** – (p<0,001) порівняно з показниками клінічно здорових тваринами; 2) • – (p<0,05) порівняно із другою дослідною групою*

На 10-ю добу після операції у собак першої групи спостерігали підвищення рівня загальних гексоз до 1,51±0,12 г/л (p<0,001), глікопротеїнів – до 1,14±0,1 г/л (p<0,001), та деяке глікозаміногліканів – 0,37±0,03 г/л. Саме цей період виявився піковим для цих показників.

Проте в собак другої групи в цей час відмічали, навпаки, тенденцію до їх зниження: загальні гексози – 1,18±0,02 г/л ($p<0,001$), глікопротеїни – 0,93±0,04 г/л ($p<0,001$), глікозаміноглікани – 0,25±0,03 г/л. Також спостерігалася вірогідна різниця за вмістом загальних гексоз ($p<0,05$) за переломів стегнової кістки порівняно із тваринами другої дослідної групи. Саме в період з 4 до 10 доби поряд із фазою запальної резорбції відбувається диференціювання клітин і формування тканиноспецифічних структур у ділянці травмованої кістки. Також на цій стадії розпочинається регенерація клітин, які активно синтезують протеоглікани і колаген різних типів, що формують міжклітинну речовину [19, 20].

У подальшому на 30-у добу після операції в фазу регенерації в тварин обох груп спостерігали тенденцію до зниження рівня метаболітів сполучнотканинного обміну. Так, у тварин першої групи вміст загальних гексоз становив 1,11±0,04 г/л ($p<0,01$), глікопротеїнів – 0,8±0,01 г/л ($p<0,01$) та глікозаміногліканів – 0,31±0,03 г/л. У тварин другої групи – 1,08±0,03 г/л ($p<0,01$), 0,82±0,03 г/л ($p<0,01$) та 0,26±0,03 г/л, відповідно. Ця фаза репаративного остеогенезу може тривати до 16 тижнів і характеризується реорганізацією тканинних структур та мінералізацією, та при надійній фіксації кісткових уламків закінчується утворенням кісткового регенерату, який має чітку рентгенологічну маніфестацію [21].

Період після 45 днів і більше характеризується ремоделюванням кісткового регенерату та заміщенням грубоволокнистої кістки в регенераті пластинчатою а у подальшому формуванням кісткової тканини [22]. Саме в період 60-ї доби після операції у тварин першої групи спостерігали знову збільшення вмісту в крові загальних гексоз – 1,35±0,07 г/л ($p<0,001$), ГП –1,11±0,09 г/л ($p<0,001$) та ГАГ – 0,34±0,04 г/л. У тварин другої групи також спостерігали збільшення цих показників, але у меншій мірі зокрема загальні гексози становили 1,13±0,05 г/л ($p<0,01$), глікопротеїни – 0,83±0,04 г/л ($p<0,01$) та глікозаміноглікани – 0,30±0,03 г/л. Проте, слід зазначити, що у тварин із переломами стегнової кістки вміст загальних гексоз та глікопротеїнів був вірогідно вищим ($p<0,05$) порівняно із тваринами другої дослідної групи.

Таким чином, маркери метаболізму сполучної тканини є достатньо інформативними показниками розвитку та зміни фаз запально-регенеративного процесу за репаративного остеогенезу.

Висновки. 1. Встановлені закономірності вмісту маркерів метаболізму сполучної тканини в сироватці крові собак за переломів стегнової кістки і кісток передпліччя та на різних стадіях репаративного остеогенезу.

2. Підвищення вмісту в сироватці крові загальних гексоз, глікопротеїнів і глікозаміногліканів має двохфазний характер. Перша його хвили співпадає із фазою запальної резорбції травмованої кістки, друга – з її ремоделюванням після консолідації перелому. Причому, перша в умовах переломів стегнової кістки та її остеосинтезу втричі подовжується порівняно з консервативним лікуванням переломів кісток передпліччя.

Перспективою подальших досліджень є корекція вмісту загальних гексоз, глікопротеїнів та глікозаміногліканів у собак за переломів довгих трубчастих кісток для оптимізації перебігу їх загоєння.

Список літератури

1. Петренко, О. Особливості переломів кісток у домашніх тварин / О. Петренко // Ветеринарна медицина України. – 2002. – № 5. – С. 16–17. **2.** Петренко, О.Ф. Раціональні методи остеосинтезу та стимуляція репаративного остеогенезу у тварин: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. вет. наук : спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія" / О. Ф. Петренко – Біла Церква, 2002. – 34 с. **3.** Кирилова, И.А. Костная ткань как основа остеопластических материалов для восстановления костной структуры / И.А. Кирилова // Хирургия позвоночника – 2011. – № 1. – С. 68-74. **4.** Смурна, О.В. Застосування екстракортикального остеосинтезу та гідроксилапатиту "КЕРГАП" при переломах клубової кістки у собак : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук : спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія"./О.В. Смурна — Біла Церква, 2009. — 20 с. **5.** Appan, S. Management of diaphyseal humeral fracture using plate rod technique in a dog / S. Appan, M. Shiju Simon, B. C. Das, A. Arun Prasad, R. Suresh kumar // Tamilnadu J. Veterinary & Animal Sciences – 2011.–№7 (1). P.–35-38. **6.** Нікольченко, О. А. Морфологічні особливості репаративного остеогенезу в умовах аліментарного дефіциту кальцію: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біолог. наук : спец. 03.00.11 „Цитологія, клітинна біологія, гістологія"./ О.А. Нікольченко – Київ, 2009.– 20 с. **7.** Пустовіт, Р.В. Гемостаз та його корекція при переломах трубчастих кісток у собак : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук : спец. 16.00.05 "Ветеринарна хірургія" / Р.В. Пустовіт. – Біла Церква, 2008. – 22 с. **8.** Рубленко, М.В. Реакція гострої фази у собак з переломами стегнової кістки / М.В Рубленко, О.В.Єрошенко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Біла Церква, 2011. – Вип. 8 г/л (87). – С. 138-143. **9.** Издепский, В.Й. Изменения обмена сиаловых кислот при гнойных артритах / В.Й. Издепский // Проблемы хиру-ргической патологии с/х животных – Тезисы докладов Всесоюзной науч. конф. – Белая Церковь, 1991. – С. 137-138. **10.** Чорнозуб, М.П. Зміни білків і білковоуглеводних сполук у синовіальній рідині та сироватці крові при асептичних артритах у молодняку великої рогатої худоби: автореф. дис канд. вет. наук: спец. 16.00.05 "Ветеринарна хірургія"./ М.П. Чорнозуб– Біла Церква, 1999. – 19 с. **11.** Тимошенко, О.П., Леонтьєва, Ф.С., СєгодінО.Б. Рівень білково-вуглеводних компонентів у сироватці крові тварин як показник стану кістково-хрящової системи / О.П. Тимошенко, Ф.С. Леонтьєва, О.Б Сєгодін // Проблеми зооінж. та вет. медицини: Зб. наук. праць Харківського зоовет. ін-ту. – Харків: РВВ ХЗВІ, 2001. – Вип. 8, Ч.2. – С. 36-39. **12.** Тимошенко, О.П., Сєгодін, О.Б. Біохімічні показники сироватки крові собак із дисплазією кульшових суглобів / О.П. Тимошенко, О.Б. Сєгодін // Вісник Білоцерківського держ. аґрарн. ун-ту. — Біла Церква, 2006. – Вип. 33, Ч 2. – С. 96-103. **13.** Петрик, М.В. Застосування антисептичних емульсій із димексидом при гнійно-некротичних процесах у ділянці пальців у високопродуктивних корів: автореф. дис. канд. вет. наук: спец. 16.00.05 "Ветеринарна хірургія" / М.В. Петрик – Біла Церква, 2006.– 22 с. **14.** Ільніцький, М.Г. Показники обміну сполучної тканини в післяопераційний період за різних методів оваріоектомії у сук та свинок / М.Г. Ільніцький, О.В. Ємельяненко // Вісник Полтав. держ. аграр. акад. – 2007. – Вип.1. – С.105–108. **15.** Р.В. Передера, Г.В. Слюсар, Зміни маркерів метаболізму сполучної тканини під час загоєння ран різної площини у собак. **16.** Краєвський, С.А., Козій, В.І. Вплив сироватки кордової крові на обмін інгредієнтів сполучної тканини у сук за використання синтетичного шовного матеріалу при оваріогістероектомії. **17.** Жорник, Д.В. Стан обмінних процесів в системі сполучної тканини свиней за різних способів герніотомії / Д.В. Жорник, М.Г. Ільніцький // Науковий вісник Луган. нац. аграр. ун-ту. - 2009. - №9. – С. 23–26. **18.** Неверов, Н.В., Титоренко, Н.И. Фракционное определение содержания гексоз, связанных с белками, в сыворотке крови. / Н.В. Неверов, Н.И. Титоренко // Лаб. дело. – 1979. – № 6. – С. 323–325. **19.** Hiltunen, A. Reguiation of extracellular matrix gene during fracture healing in mice / A. Hiltunen, H.T. Aro, E. Vuorio // Clin. Orthop. – 1993. – Vol. 297. – P.23-27. **20.** Hiltunen, A. A standardized experimental fracture in the mouse tibia. / A. Hiltunen, E. Vuorio, H.T. Aro // J. Orthop. Res. – 1993. – Vol. 11. – P.305-312. **21.** Webb, J.C., Tricker, J. A review of fracture healing. / J.C. Webb, J. Tricker // Current orthopedics. – 2000. – Vol. 14. – P.457-463. **22.** Корж, Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации (Сообщение 1) / Н. А. Корж, М. В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 77–84.

MARKERS OF METABOLISM OF A CONNECTIVE TISSUE AT BONE FRACTURES IN DOGS

Rublenko M.V., Yeroshenko O.V.

Belotserkovsky National Agrarian University

The levels of markers of a connective tissue metabolism in blood serum in dog with bone fractures were investigated. There were established diphasic incensements of levels of the general gecsoses, glycoproteins and glycosaminoglicans which coincide with stages of bone generation.