



ISSN 2072-2419

№ 3

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

INTERNATIONAL BULLETIN
OF VETERINARY MEDICINE



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2014

www.gavm.spb.ru

Редакционный совет

А.А. Стекольников – гл. ред., член-корр.
РАСХН, д.в.н., проф., СПб
В.Д. Соколов – зам. гл. ред. д.в.н. проф., СПб
А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н. проф.,
Витебск

Редакционная коллегия

А.А. Алиев, д.в.н., проф., СПб.
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.
Л.М. Белова, д.б.н., проф., СПб.
М.И. Гулюкин, акад. РАСХН, д.в.н., проф.
Москва.
Н.В. Зеленовский, д.в.н., проф., СПб.
Л.Ю.Карпенко, д.б.н., проф., СПб.
С.П. Ковалев, д.в.н., проф., СПб.
А.А. Кудряшов, д.в.н., проф., СПб.
В.А. Кузьмин, д.в.н., проф., СПб.
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.
К.В. Племяшов, д.в.н., проф., СПб.
Б.С. Семенов, д.в.н., проф., СПб.
А.М. Смирнов, акад. РАСХН, д.в.н., проф.,
Москва.

А.А. Сухинин, д.б.н., проф., СПб.

А.Н. Шиков, д.ф.н., проф., СПб.

Редакционно-технический отдел

В.Д. Соколов, д.в.н. проф., СПб.
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.
А.В. Рыбакова, к.в.н., СПб.

Сдано в набор 18.01.2016

Подписано к печати 18.01.2016

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянецовая № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5,2+1,63 цв. вкл.

Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

Editor –in– chief

A.A. Stekolnikov professor, DVM, Corresponding
Member of the Russian Academy of Agricultural
Sciences

Managing Editor

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg
A.I. Yatusевич - professor, DVM, Vitebsk

Editorial Board

A.A. Aliyev - professor, DVM, St. Petersburg
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg
L.M. Belova - professor, DBS, St. Petersburg
M.I. Gulyukina - Academician of the Agricultural
Russian Academy of Agricultural Sciences, DVM,
professor, Moscow
N.V. Zelenevski - professor, DVM, St. Petersburg
L.Y. Karpenko - professor, DBS, St. Petersburg
S.P. Kovalev - professor, DVM, St. Petersburg

A.A. Kudryashov - professor, DVM, St. Petersburg
V.A. Kuzmin - professor, DVM, St. Petersburg
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg .
K.V. Plemyshev - professor, DVM, St. Petersburg
B.S. Semenov - professor, DVM, St. Petersburg
A.M. Smirnov - Academician of the Agricultural
Russian Academy of Agricultural Sciences, DVM,
professor, Moscow

A.A. Sukhinin - professor, DVM, St. Petersburg
A.N. Shikov - professor, DFS, St. Petersburg

Technical Department

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg
A.V. Rybakova - PhD, St. Petersburg
Sent to 03/14/2014

Signed for printing 14/03/2014

The format of 100 × 70 1/16 .

Glossy paper number 1. Offset printing.

Conv. Pec. liter. 5.2 1.63 fl. incl.

Conv. Cr. - ott . 18.2 . Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки расположено: **Атлантический ветеринарный колледж (AVC)**, который является аккредитованным и всемирно признанным ветеринарным колледжем в университете о. Принц Эдуард, Канада. Атлантический ветеринарный колледж был построен в 1985 году. В колледже располагаются различные научно-исследовательские центры, такие как центр ветеринарной эпидемиологии, научный центр изучения водной среды и др.

**НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ
ЖУРНАЛ**

Номер госрегистрации СМИ ПИ № ФС 77-28268 от 18 мая 2007 г. Подписной индекс в агентстве Роспечать 82393.

Учредитель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (ФГОУ ВПО «СПбГАВМ»)

Журнал основан в январе 2004 года в Санкт-Петербурге и входит в список ведущих лицензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Журнал распространяется по всем регионам России и Республике Беларусь (ВУЗЫ, НИИ, ВЕТЕРИНАРНЫЕ ОТДЕЛЫ).

Журнал выходит не менее 4 раз в год. В нем публикуются работы по всем основным вопросам ветеринарии и смежным дисциплинам.

В этот журнал Вы можете поместить рекламу Вашей фирмы. Объявления и коммерческая реклама публикуются после оплаты. Срок исполнения – в течение 3 месяцев.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Мнение авторов и редакции по отдельным вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи не взимается.

Справки и технические возможности типографии, в которой печатается журнал, оговариваются по телефону (812) 387-11-58.

Адрес редакции: 196084, СПб, ул. Черниговская дом 5, СПбГАВМ, редакция журнала «Международный вестник ветеринарии» (МВВ).

**RESEARCH AND PRODUCTION
JOURNAL**

State registration number media PI № FS 77-28268 on May 18, 2007. Subscription Index Rospechat 82393.

Founded in January 2004 by Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Saint - Petersburg State Academy of Veterinary Medicine " (FSEI- HPE " SPbGAVM")

International Bulletin of Veterinary an academic international peer-reviewed journal that publishes original research articles as well as review articles in veterinary sciences and related academic disciplines. It covers all the scientific and technological aspects of veterinary sciences in general, anatomy, physiology, biochemistry, pharmacology, microbiology, pathology, public health, parasitology, infectious diseases, clinical sciences, alternative veterinary medicine and other biomedical fields.

The manuscripts submitted to this journal must be previously unpublished and not be under consideration for publication elsewhere. Manuscripts that are found to have been plagiarized from a manuscript by other authors, whether published or unpublished, will incur plagiarism sanctions.

This journal, including all individual contributions and illustrations published therein, is legally protected by copyright. Any use, exploitation or commercialisation is illegal and liable to criminal prosecution.

Requests about legal photocopy reproduction, copyright or duplication processing should be addressed to the editorial office:

196084, St. Petersburg, ul . Chernihiv house 5 SPbGAVM, Editorial Board of "International Bulletin of Veterinary Medicine" (IBVM), phone +7-812- 3871158 .

СОДЕРЖАНИЕ

Инфекционные болезни	<ul style="list-style-type: none"> • Экспертная оценка формирования заразной патологии в популяции домашних плотоядных и других видов животных. <i>Пашкин А.В., Пашкина Ю.В., Горин М.А., Фадеева А. Н., Атрохова С.В., Картушина Л.Н., Карелкин Д.В.</i> 7 • Электронная микроскопия в комплексной диагностике микоплазмозов у коз Зааненской породы. <i>Данко Ю.Ю., Рублёв А.Л.</i> 12 	
Хирургия	<ul style="list-style-type: none"> • Лечение кожных экспериментальных ран у лошадей с применением тромбоцитарной аутоплазмы. <i>Семёнов Б.С., Кузнецова Т.Ш., Гусева В.А.</i> 19 • Структурные изменения тканей копытцев при глубоких некрозах. <i>Симонов Ю.И.</i> 24 • Обоснование применения биodeградируемого покрытия титановых имплантов, предназначенных для протезирования зубов у собак. <i>Красников А.В., Анников В.В., Морозова Д.Д., Фомин А.А., Заярский Д.А., Петрова Н.В.</i> 28 	
Фармакология, токсикология, фармация	<ul style="list-style-type: none"> • Влияние стресс-факторов на заболеваемость телят диспепсией. <i>Винникова С.В., Донская Т.К., Батраков А.Я., Кириллов А.А.</i> 32 • Определение антимикробной активности Фураргента при длительном хранении. <i>Лунегов А.М.</i> 36 • Эффективные лекарственные средства при лечении повреждений тканей. <i>Фисенков Н.Н.</i> 40 • Адаптогенные и ростостимулирующие свойства некоторых иммуностимуляторов. <i>Войтенко В.Д., Андреева Н.Л.</i> 44 	
Зоогигиена, Санитария, Кормление	<ul style="list-style-type: none"> • Применение естественных метаболитов в рационах свиноматок. <i>Лунегова И.В.</i> 49 • Изменение показателей живой массы и сохранности кур при добавлении в корм кремнеземистого мергеля. <i>Жилочкина Т.И.</i> 53 	
Биохимия, анатомия, физиология	<ul style="list-style-type: none"> • Коррекция иммунной недостаточности у собак. <i>Бобрицкая О.Н.</i> 58 • Ультраморфология гемомикроциркуляторного русла молочной железы коз Зааненской породы. <i>Щипакин М.В.</i> 63 • Возрастная морфология артерий области бедра рыси Евразийской (LYNX EUROASIAN). <i>Былинская Д.С.</i> 68 	
Экспериментальная фармакология	<ul style="list-style-type: none"> • Принципы работы службы контроля качества биомедицинских исследований с участием животных. <i>Селезнева А.И., Макарова М.Н., Ходько С.В., Шиков А.Н.</i> 73 • Половые различия при моделировании алкогольной нейропатии у крыс. <i>Шекунова Е.В., Кашкин В.А.</i> 82 • Влияние фиксирующих жидкостей на микроскопическую структуру органов мелких лабораторных животных. <i>Гуцин Я.А., Мужикян А.А.</i> 88 • Анализ мутагенной активности. Тест по учету доминантных летальных мутаций у млекопитающих. <i>Бекетова Д.Д., Крышень К.Л., Касторнова А.Е., Ацапкина А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i> 95 	
Информация	<ul style="list-style-type: none"> • Решение Третьего Международного конгресса 	105

CONTENTS

Infectious diseases	<ul style="list-style-type: none"> • <i>The expert estimation formation of infectious pathology in the population domestic carnivores and other kinds of animals. A. Pashkin, Ju. Pashkina, M. Gorin, A. Fadeeva, S. Atrochova, L. Kartushina, D. Karelkin.</i> 7 • <i>Electron microscopy in the diagnosis of complex mycoplasmoses zaanenskoj breed goats. A. Rublev, Yu. Danko.</i> 12
Surgery	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Treatment of skin experimental wounds in horses using Thrombocytic autoplasm. B. Semenov, T. Kuznetzova, V. Guseva.</i> 19 • <i>Struktural changes in the tissues of the hoofs with deep necrosis. U. Simonov.</i> 24 • <i>Justification of use of biodegradable coatings on titanium implants, used for dental prosthetics for dogs. A.V. Krasnikov, V. Annikov, D. Morozova, A. Fomin, D. Zayarsky, N. Petrova.</i> 28
Pharmacology, toxicology, pharmacy	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Influence a stress factors on incidence of calves of a dispepsiya. S. Vinnikova, T. Donskaya, A. Batrakov, A. Kirillov.</i> 32 • <i>Determination of antimicrobial activity furargent during prolonged storage. A. Lunegov.</i> 36 • <i>Effective medicines at treatment of damages of fabrics. N. Fisenkov.</i> 40 • <i>Adaptogenic and growth-promoting properties of some immunostimulators. V. Voytenko, N. Andreeva.</i> 44
Zoohygiene, Sanitation, Feeding	<ul style="list-style-type: none"> • <i>The use of natural metabolites in the diets of sows. I. Lunegova.</i> 49 • <i>Change indicators of live weight and safety when added to chicken feed siliceous marl. T. Zhilochkina.</i> 53
Biochemistry, anatomy, physiology	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Correction of immune deficiency in dogs. O. Bobritskaya.</i> 58 • <i>Ultramorphology og the haemo-microcirculatory course of the mammary gland of goats of Zaanenskaya breed. M. Shchipakin.</i> 63 • <i>Age-river rift morph dynamics arteries hip area of the Eurasian lynx (LYNX EUROASIAN). D. Bylinskaya.</i> 68
Experimental pharmacology	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Principles of the quality management system in biomedical experiments on animals. A. Selezneva, M. Makarova, S. Khodko, A. Shikov.</i> 73 • <i>Sex different of experimental alcohol neuropathy in rats. E. Shekunova, V. Kashkin.</i> 82 • <i>Effect of fixing liquids on microscopic structure of small laboratory animals. Ya. Gushchin, A. Muzhikyan.</i> 88 • <i>Mutagenic activity analysis. Dominant lethal assay in mammals. D. Beketova, K. Kryshen, A. Kastornova, A. Atsapkina, M. Makarova, V. Makarov.</i> 95
Information	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Solution: Third International Congress</i> 105

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬНОЙ НЕЙРОПАТИИ У КРЫС

Шекунова Е.В.^{1,2} - к.б.н., Кашкин В.А.^{1,2} - к.м.н.,

¹ – Санкт-Петербургский Институт Фармации, ² - Институт фармакологии им.
А.В.Вальдмана ПСПГМУ им. акад. И.П. Павлова.



РЕФЕРАТ

Целью данного исследования была адаптация модели развития алкогольной нейропатии у самок и самцов крыс линии Вистар. Использование метода форсированного питья этанола в нарастающих концентрациях (от 7,47% (w/w) до 26,2% (w/w)) в течение 8 недель привело к развитию аллодинии, которая отражает развитие нейропатии. При этом наблюдались существенные межполовые различия. Значительная аллодиния фиксировалась у самцов крыс к 8-ой неделе потребления этанола, у циклирующих самок значимого развития аллодинии зарегистрировано не было. В то же время в группе овриэктомированных самок наблюдалось значимое развитие аллодинии. Полученные результаты говорят о важности такого фактора, как гормональный статус, в развитии алкогольной нейропатии, что необходимо учитывать при тестировании с использованием данной модели препаратов, потенциально обладающих нейротекторными и анальгетическими свойствами.

Ключевые слова: алкоголь, нейропатия, тактильная аллодиния, половые различия, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Алкогольная нейропатия – это алкогольное поражение периферического отдела нервной системы, являющееся наиболее частым осложнением острой и хронической алкогольной интоксикации. Алкогольная нейропатия имеет симптомы, схожие с другими формами повреждения нервов: покалывание, онемения конечностей, озноб, нарушение координации, и так далее. Все это может сопровождаться хроническими болями, типичными для периферической нейропатии. В последние десятилетия в индустриально развитых странах наметилась тенденция к увеличению потребления алкоголя женщинами, и, как следствие, к увеличению частоты встречаемости среди женщин осложнений (в том числе и развитием нейропатии), связанных с хроническим

потреблением алкоголя (Gomberg, 1993).

По всей вероятности в развитии алкогольной нейропатии, основное значение имеет прямой нейротоксический эффект этанола и его метаболитов (Koike et al., 2003, Claus et al., 1985; Monforte, Estruch et al., 1995). Однако данные, полученные в последние годы, показали, что в развитии патологии могут принимать участие такие индуцирующие нейродегенеративные процессы факторы как оксидативный стресс, инсулиновая резистентность (Bosch-Morell et al., 1998; De la Monte et al., 2005, Cohen et al., 2007; De la Monte et al., 2008; De la Monte et al., 2009; Nguyen et al., 2012). Предполагается, что в результате алкогольной интоксикации нарушается баланс между прооксидантами и антиоксидантами до такой степени, что в результате окисления повреждаются био-

молекулы, в том числе жиры, белки, ДНК, что, в конечном счете, ведет к повреждению клеток и развитию нейропатии (Chopra, Tiwari, 2011). На фоне хронического потребления алкоголя при оксидативном стрессе происходит высвобождение цитокинов - медиаторов воспаления, и активация протеин киназы C (Dina et al., 2007). Также в развитии алкогольной нейропатии показана роль активации глутаматных mGlu5 рецепторов спинного мозга (Miyoshi et al., 2007), опиоидергической системы и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (Gianoulakis et al., 2003; Thayer et al., 2006). Немаловажным в развитии алкогольной нейропатии является и влияние половых гормонов. Показано наличие половых различий в развитии экспериментальной алкогольной нейропатии у крыс (Dina et al., 2007). Важную роль в наблюдаемых половых различиях может играть женский половой гормон эстроген, который обладает модулирующим действием на ноцицептивную систему (Craft et al., 2004). Эстрогеновые рецепторы присутствуют и в спинальных ганглиях (Shughrue et al., 1997), что создает морфологическую базу для непосредственного влияния эстрогенов на процесс развития периферической алкогольной нейропатии. Кроме того, эстроген обладает нейропротективным действием, которое уменьшает нейротоксическое действие этанола (Jung et al., 2005, Rewal et al., 2005), что также может быть причиной различной чувствительности самцов и самок к нейротоксическому действию этанола.

В данном исследовании было изучено развитие алкогольной нейропатии у самцов и самок (циклирующих и овариэктомированных) крыс. С этой целью была проведена адаптация одной из существующих на сегодняшний день моделей развития алкогольной нейропатии. Полученные результаты могут служить основой для исследований лекарственных пре-

паратов с нейропротективным и анальгетическими свойствами с дальнейшей оптимизацией терапии с учетом межполовых различий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на самках и самцах крыс линии Вистар массой 200-250 г (питомник «Рапполово», Россия). Животных содержали в условиях 24-х часового фоторежима (12 ч день:12 ч ночь, включение света в 8:00), контролируемой температуры ($22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) и влажности ($65\%\pm 10\%$) воздуха при свободном доступе к очищенной воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм). За неделю до начала эксперимента животные были рассажены в клетки индивидуального содержания.

Индукция алкогольной нейропатии

Животные подвергались процедуре форсированного потребления алкоголя. Ежедневно концентрация этанола повышалась в следующем порядке: 7,47% (w/w), 12,68% (w/w), 17,03% (w/w), 21,6% (w/w), 26,2% (w/w). Далее до окончания эксперимента животные получали этанол в концентрации 26,2% (w/w). Ежедневно животные получали доступ к питьевой воде на 1 ч. На период отмены алкоголя животные получали воду в течение суток без ограничений. Доступ к корму не ограничивался. Ежедневно проводилось взвешивание животных и регистрация количества потребленного алкоголя (путем взвешивания бутылок с этанолом).

Для изучения влияния отмены алкоголя на выраженность нейропатии у самцов и самок крыс в течение 1 недели животные получали только воду.

Овариэктомия

Операция по удалению яичников у самок крыс проводилась, как было описано ранее (Shekunova и Bepalov, 2006), с применением ингаляционной анестезии (фторотан).

Поведенческая оценка развития алкогольной нейропатии

Еженедельно проводилась оценка развития тактильной аллодинии с использованием калиброванных микрофиламентов фон Фрея (Stoelting, США) по методике Чапман («up-down method») (Chaplan, Bach et al., 1994). Животные высаживались в специальные боксы, где адаптировались к условиям эксперимента в течение 10-15 минут. Затем к каждой лапе животного последовательно прикладывались микрофиламенты различного диаметра. Психофизиологический среднеэффективный порог тактильной реактивности рассчитывали по методу, описанному Диксоном (Dixon, 1980). На фоне отмены этанола оценка аллодинии проводилась ежедневно.

Статистическая обработка.

Для анализа данных использовался

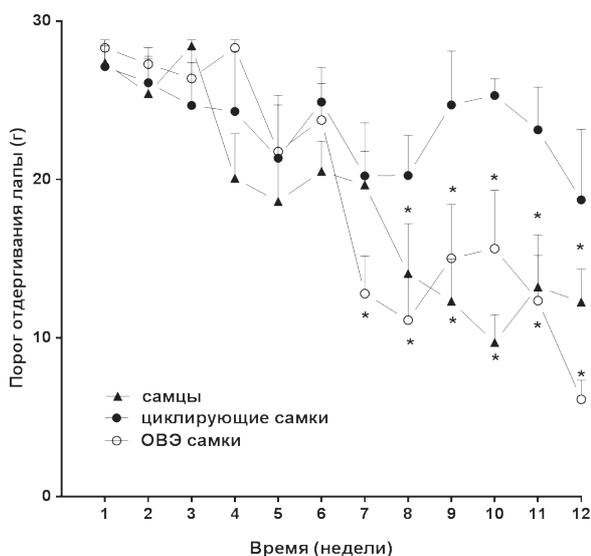


Рис. 1. Развитие аллодинии на фоне форсированного потребления этанола у самцов (n=8) и самок (циклирующих (n=5) и овариэктомированных (n=6)) крыс.

Развитие аллодинии оценивали с помощью калиброванных микрофиламентов фон Фрея. Данные представлены в виде средних значений порога отдергивания задних лап ($M \pm m$). Измерения проводились еженедельно. * - $p < 0,05$, значимые отличия от показателей, полученных в первую неделю эксперимента у данной группы животных.

двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с повторными измерениями, в случае обнаружения достоверного влияния исследуемого фактора последующие межгрупповые сравнения были проведены с использованием критерия Бонферрони. Различия были определены при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения SPSS v16 (IBM Corp., US).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Взвешивание животных и бутылок с этанолом проводилось еженедельно. Потребление алкоголя в максимальной концентрации в среднем составило $8,14 \pm 0,52$ г/кг/день. Различий в потреблении этанола между всеми экспериментальными группами выявлено не было.

Половые различия в развитии аллодинии у крыс

На рисунке 1 представлены данные о развитии аллодинии при сравнительном изучении алкогольной нейропатии у самцов и самок (циклирующих и овариэктомированных) крыс. При проведении дисперсионного анализа с повторными измерениями взаимодействие факторов «группа животных» и «неделя тестирования» было достоверным ($F_{22,176}=2,76$, $p < 0,01$), при этом влияние фактора «группа животных» было близко к достоверному - $F_{2,16}=3,5$, $p=0,055$. Последующие межгрупповые сравнения показали, что у циклирующих самок крыс аллодиния, вызванная хроническим потреблением алкоголя, была выражена в меньшей степени, чем у самцов и овариэктомированных крыс (рисунок 1). При этом потребляемое количество алкоголя в пересчете на кг массы тела не различалось (дисперсионный

анализ с повторными измерениями, фактор «группа животных» - $F_{2,16}=1,69$, $p=0,22$).

Для изучения выраженности нейропатии при абстинентном алкогольной синдроме животные в течение 1 недели получали только воду. На фоне отмены алкоголя, также как и при развитии аллодинии при форсированном потреблении, у циклирующих крыс признаки развития алкогольной нейропатии были выражены в меньшей степени (рисунок 2). Дисперсионный анализ с повторными измерениями показал значимость фактора «гормональный статус» ($F_{1,20}=45,26$, $p<0,0001$). Последующие межгрупповые сравнения (*post hoc*) подтвердили статистически значимое отличие между группами ($p<0,001$; Тест Бонферрони).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов можно говорить об успешной разработке простого протокола, который позволяет моделировать развитие алкогольной нейропатии у самцов и самок крыс в течение 2-3-х месяцев. Данная методика позволяет изучать терапевтическую активность фармакологических агентов на стадии развития патологического процесса и изучать эффективность препаратов в лечении уже развившейся патологии.

В течение алкоголизации крысы потребляли около 8 г/кг этанола в день. В данном исследовании признаки алкогольной нейропатии (аллодиния) фиксировались уже на 7-й неделе потребления алкоголя у овариэктомированных самок и с 8-ой недели – у самцов. Полученные результаты согласуются с литературными данными, где аллодиния и гипералгезия у самцов крыс фиксировались на 8-й неделе от начала потребления алкоголя (Tiwari et al., 2009). Важно отметить, что у циклирующих самок тактильная чувствительность не менялась достоверно по отношению к исходному уровню на протяжении всего наблюдения.

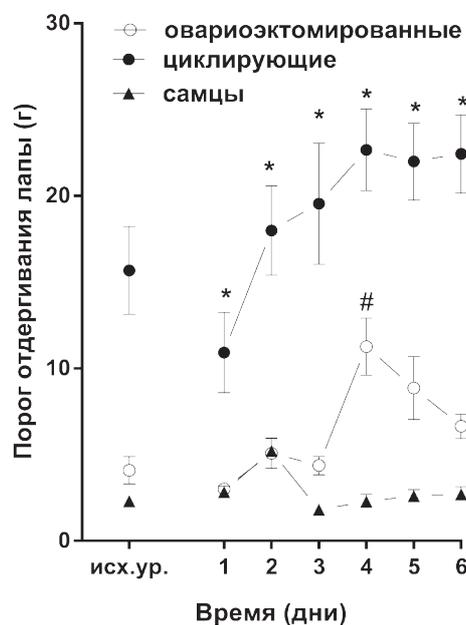


Рисунок 2 – Аллодиния после отмены этанола у самок и самцов крыс. Черные треугольники – самцы ($n=8$), черные кружки - самки циклирующие ($n=5$), белые - самки овариэктомированные ($n=6$). Развитие аллодинии оценивали с помощью калиброванных микрофиламентов фон Фрея. Данные представлены в виде средних значений порога отдергивания задних лап ($M \pm m$). По оси абсцисс - дни после отмены алкоголя (животные получали только воду); * - $p<0,05$, значимые отличия между овариэктомированными и циклирующими самками в данный день эксперимента (тест Бонферрони); # - $p<0,05$, значимые отличия между исходным уровнем и днем отмены (тест Бонферрони).

После отмены этанола аллодиния продолжает присутствовать в течение, как минимум, одной недели, как у самцов, так и у овариэктомированных самок. У циклирующих самок достоверных изменений порогов отдергивания лап на фоне отмены этанола обнаружено не было.

Таким образом, как на фоне потребления этанола, так и при отмене алкоголя у циклирующих крыс признаки развития алкогольной нейропатии были выражены

в меньшей степени по сравнению с овариэктомированными самками и с самцами. Хотя имеющиеся литературные данные (Dina et al., 2007) свидетельствуют о том, что алкогольная нейропатия в большей степени развивается у циклирующих самок по сравнению с овариэктомированными, расхождения с полученными нами данными могут быть обусловлены рядом факторов: различные линии крыс (линия Вистар (*Wistar*) в данном исследовании и линия Спрег-Дуули (*Sprague-Dawley*) в исследовании Dina O.), а также другая методика измерения болевых порогов. Однако наибольшее значение может иметь возраст крыс, в котором была проведена операция по овариэктомии. Так в нашем исследовании самки были овариэктомированы в возрасте 3-х месяцев, в то время как в работе Dina O.A яичники были удалены у самок до достижения половозрелости (в возрасте 21 день).

Полученные данные о половых различиях в процессе развития алкогольной нейропатии у крыс линии Вистар (более сильная выраженность патологии у овариэктомированных крыс по сравнению с циклирующими самками) позволяет сделать предположение о возможном нейропротективном действии женских половых гормонов на периферические нейродегенеративные процессы, ведущие к развитию алкогольной нейропатии. На сегодняшний день накоплено большое количество данных о нейропротективной роли эстрогенов. Показано, что эстроген обладает нейропротекторным действием, уменьшая нейротоксический эффект этанола (Jung et al., 2005, Rewal et al., 2005).

Таким образом, использованный методический подход позволяет моделировать развитие алкогольной нейропатии у самцов крыс линии Вистар. Однако у циклирующих интактных самок, хронически потребляющих этанол в том же режиме, что и самцы, развития аллодинии зафиксировать не удалось. Полученные данные

говорят о существовании половых различий в поведенческих проявлениях моделируемой патологии. Овариэктомия, приводящая к снижению уровня половых стероидов, индуцировала развитие поведенческих проявлений нейропатии у овариэктомированных самок крыс. Причем выраженность аллодинии у овариэктомированных самок была сопоставима с таковой, наблюдаемой у самцов. Полученные результаты говорят о важности такого фактора, как гормональный статус, в развитии алкогольной нейропатии, что необходимо учитывать при тестировании с использованием данной модели препаратов, потенциально обладающих нейропротекторными и анальгетическими свойствами. Представляется перспективным дальнейшее изучение механизмов, лежащих в основе наблюдаемых половых различий в развитии нейропатии, что может способствовать, в дальнейшем, оптимизации терапии алкогольной нейропатии.

Sex different of experimental alcohol neuropathy in rats.

E. Shekunova, V. Kashkin.

ABSTRACT

The aim of this study was to adjust one of the existing model of - alcoholic neuropathy development using force alcohol consumption schedule in male and female Wistar rats. As a result, it was shown that by 8 weeks in chronic consumption of ethanol (26,2% (w/w)) resulted in development of signs of neuropathy, which appeared in the presence of allodinia. There were significant sex differences in allodinia development. Significant allodinia was observed in male rats following 8 weeks of ethanol consumption. In contrast, there were no observed signs of allodinia in cycling females. Depletion of sex hormones by ovariectomy resulted in allodinia development in ovariectomised female rats. Results obtained here underlines role of sex hormones in the process of neuropathy development.

Key words: alcohol, neuropathy, tactile

allodinia, sex different, rat.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bosch-Morell F., Martinez-Soriano F., Colell A., Fernandez-Checa J.C., Romero F.J. Chronic ethanol feeding induces cellular antioxidants decrease and oxidative stress in rat peripheral nerves: effect of *s*-adenosyl-l-methionine and *n*-acetyl-l-cysteine. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 365–68.
2. Chaplan S.R., Bach F.W., Pogre I.J.W., Chung J.M., Yaksh T.L., 1994. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J. Neurosci. Methods* 53, 55-63.
3. Cohen A.C., Tong M., Wands J.R., de la Monte S.M. Insulin and insulin-like growth factor resistance with neurodegeneration in an adult chronic ethanol exposure model. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2007, 31, 1558–1573.
4. Craft R.M., Mogil J.S., Aloisi A.M. Sex differences in pain and analgesia: the role of gonadal hormones. *Eur.J.Pain.* 2004. 8:397-411.
5. De la Monte S.M., Longato L., Tong M., DeNucci S., Wands, J.R. The liver-brain axis of alcohol-mediated neurodegeneration: role of toxic lipids. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2009, 6, 2055–2075.
6. De la Monte S.M., Wands J.R. Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: Relevance to Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2005, 7, 45–61.
7. De la Monte S.M., Yeon J.E., Tong M.; Longato L., Chaudhry R., Pang, M.Y., Duan K., Wands J.R. Insulin resistance in experimental alcohol-induced liver disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2008, 23, e477–e486.
8. Dina O.A., Gear R.W., Messing R.O., Levine J.D. Severity of alcohol-induced painful peripheral neuropathy in female rats: role of estrogen and protein kinase (A and C epsilon). *Neuroscience* 2007; 145: 350–6.
9. Dixon W.J., 1980. Efficient analysis of experimental observations. *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* 20, 441-462.
10. Gianoulakis C., Dai X., Brown T. Effect of chronic alcohol consumption on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and pituitary beta-endorphin as a function of alcohol intake, age, and gender. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27: 410–23.
11. Gomberg E.S. Women and alcohol: use and abuse. *J Nerve Ment Dis* 1993; 181: 211-219.
12. Jung M.E., Gatch M.B., Simpkins J.W. Estrogen neuroprotection against the neurotoxic effects of ethanol withdrawal: potential mechanisms. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005;230:8–22.
13. Miyoshi K., Narita M., Takatsu M., Suzuki T. mGlu5 receptor and protein kinase C implicated in the development and induction of neuropathic pain following chronic ethanol consumption. *Eur J Pharmacol* 2007; 562: 208–11.
14. Monforte R., Estruch R., Valls-Sole J., Nicolas J., Villalta J., Urbano-Marquez A., 1995. Autonomic and peripheral neuropathies in patients with chronic alcoholism. A dose-related toxic effect of alcohol. *Arch.Neurol.* 52, 45-51.
15. Nguyen V.A., Le T., Tong M., Mellion M., Gilchrist J., de la Monte S.M., 2012. Experimental alcohol-related peripheral neuropathy: role of insulin/IGF resistance. *Nutrients.* 4, 1042-1057.
16. Rewal M., Wen Y., Wilson A., Simpkins J.W., Jung M.E. Role of parvalbumin in estrogen protection from ethanol withdrawal syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:1837–1844.
17. Shekunova E.V., Bepalov A.Y., 2006. Effects of memantine on estrogen-dependent acute tolerance to the morphine analgesia in female rats. *Eur.J.Pharmacol.* 535, 78-85.
18. Shughrue P.J.; Lane M.V.; Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 1997; 388:507-525.
19. Thayer J.F., Hall M., Sollers J.J. 3rd, Fischer JE. Alcohol use, urinary cortisol, and

heart rate variability in apparently healthy men: evidence for impaired inhibitory control of the HPA axis in heavy drinkers. *Int J Psychophysiol* 2006; 59:244–50.

20. Tiwari V., Kuhad A., Chopra K. Tocotrienol ameliorates behavioral and biochemical alterations in the rat model of alcoholic neuropathy. *Pain*. 2009. 145:129-35.

УДК 616-093

ВЛИЯНИЕ ФИКСИРУЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ НА МИКРОСКОПИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ ОРГАНОВ МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Гущин Я.А – м.н.с., Мужикян А.А.- м.н.с.,
Санкт-Петербургский Институт Фармации



РЕФЕРАТ

Один из важнейших этапов обработки гистологического материала является этап фиксации. Результат всего эксперимента может быть утерян при неправильном выборе или использовании фиксирующего раствора. Так же в ходе изучения гистологических срезов мы часто сталкиваемся с артефактами, возникающими в ходе обработки материала. В данном исследовании мы изучили влияние фиксирующих растворов (10% формалин, 95% этанол и Фиксатол) на микроструктуру тканей сердца, легкого, печени, почек и кишечника. В результате исследования были предложены рекомендации по применению выбранных фиксаторов для получения полноценных и достоверных гистологических данных в экспериментах на мелких лабораторных животных.

Ключевые слова: Гистологические исследования, фиксация, формалин, этанол, Фиксатол.

ВВЕДЕНИЕ

Важной частью гистологических исследований является необходимость сохранить органы и ткани для дальнейшего изучения их структуры. Для достижения этих целей служит фиксация материала. Цель фиксации – убить клетку и одновременно сохранить ее, насколько это возможно, в том состоянии, в каком она находилась при жизни [1]. Несмотря на разнообразие способов изучения микроструктуры объектов, таких как витальные окраски, исследование в темном поле, флуоресцентная микроскопия и многие другие, фиксированные препараты все равно остаются основными объектами исследования.

Существует несколько вариантов фиксации – замораживание, высушивание и

химическая фиксация, которая наиболее распространена и достигается погружением органов и тканей в жидкий фиксатор. В настоящий момент известно несколько десятков фиксирующих жидкостей, которые можно разделить на «простые» (формалин, спирты, ацетон, сулема) и «сложные». Составными частями сложных фиксаторов являются простые, наиболее часто используют спирт-формол, жидкость Ценкера, фиксатор Корнуа, смесь Буэна, смесь Шаффера и другие. Стоит заметить, что нет какого-то одного универсального фиксирующего раствора – каждый из них имеет как свои преимущества, так и свои недостатки, и зачастую используется под конкретные задачи. Такое разнообразие фиксаторов только доказывает важность одного из