

УДК 619:616-001.28/.29:636.2/4

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕЩЕСТВ МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ЖИВОТНЫХ****Низамов Р.Н., Конохов Г.В., Шарифуллина Д.Т., Нефедова Р.В., Вагин К.Н., Рахматуллина Г.И.**
Федеральный центр токсикологической и радиобиологической безопасности животных, г. Казань

Отечественными и зарубежными исследователями при изучении различных аспектов механизма противолучевого действия накоплен экспериментальный материал, свидетельствующий о способности веществ микробного происхождения (ВМП) повышать радиорезистентность организма млекопитающих к облучению [1, 3, 4].

Под влиянием веществ микробного происхождения в облученном организме активизируется фагоцитарная функция клеток системы фагоцитирующих мононуклеаров в крови и тканях, повышается устойчивость к экзогенным инфекциям, стимулируется способность к образованию антител за счет числа антителопродуцирующих клеток. Решающее значение в механизме действия ВМП имеет активация процессов регенерации кроветворной ткани в облученном организме. Это проявляется в меньшей панцитопении в разгар заболевания, более быстрым нарастанием числа гранулоцитов и тромбоцитов, более высоким содержанием гемоглобина и эритроцитов в период восстановления, усилением пролиферации и миграции стволовых клеток костного мозга, ускорением дифференцировки клеточных элементов, увеличением числа эндо- и экзогенных очагов кроветворения в селезенке и костном мозге животных. Все это свидетельствует о сложности и многогранности механизма противолучевого действия ВМП. Приведенные данные дают основание полагать, что поиск протекторов среди микробных антигенов весьма перспективен и использование веществ микробного происхождения для повышения радиорезистентности является одним из важных направлений решения проблем профилактики и терапии острой лучевой болезни.

Ведя целенаправленный поиск радиозащитных средств, на предыдущих этапах работы нами была разработана технология изготовления радиозащитного препарата – радиовакцины на основе метаболитов *E. coli*, обеспечивающей пролонгированную радиорезистентность у летально облученных животных, однако сложная технология изготовления, наличие корпускулярных частиц (цельных микробных клеток), а также невозможность применения препарата для вакцинотерапии является существенным недостатком известного препарата. Кроме того, технология его изготовления предполагает использование твердой питательной среды для выращивания микроба- продуцента, который после смыва биомассы выбрасывается как отход производства, что значительно удорожает себестоимость конечного продукта.

Вместе с тем, из данных литературы известно, что микроорганизмы в процессе роста на жидких питательных средах экспрессируют уникальный набор биологически активных веществ (БАВ), (антибиотики, ферменты, аминокислоты, микроэлементы), обладающие радиозащитными свойствами [2]. Что касается *E. coli*, то известно, что в процессе жизнедеятельности микроб продуцирует антибактериальные вещества (колицины, фермент каталазу, аминокислоты, и т.д.).

Цель работы: разработка технологии изготовления, схем применения экспериментальной серии лечебно-профилактических средств при острой лучевой болезни на основе продуктов метаболизма *E. coli*.

Материалы и методы. Лечебно профилактические препараты готовили на основе *E. coli*, засеянной на следующих питательных средах: МПБ, бульон Хоттингера, ГПЭМ. По истечении 24 часов, культуральные среды отделяли от биомассы и использовали в качестве испытуемых радиозащитных средств.

Используя вышеперечисленные питательные среды и микробные компоненты *E. coli* были получены радиозащитные препараты: продукт метаболизма *E. coli* на МПБ (препарат № 1); продукт метаболизма *E. coli* на бульоне Хоттингера (препарат № 2); продукт метаболизма *E. coli* на ГПЭМ (препарат № 3).

Культуральную жидкость после стерилизации использовали как в профилактическом, так и лечебном вариантах за 24 часа, 10 суток до и через 24 часа, 10 суток после облучения.

Для испытания радиозащитных свойств полученных препаратов использовали белых мышей и белых крыс, которых облучали в дозах 7,7 Гр и 9,0 Гр соответственно на гамма-установке «Пула» с источником излучения $Cs\ 137$, мощностью экспозиционной дозы $3,13 \times 10^{-5}$ Кл (Кг/с), неравномерность гамма-поля не превышала $\pm 10\%$. Радиозащитные препараты вводили подкожно в дозе по 0,1 мл белым мышам и 0,5 мл белым крысам. Об эффективности испытуемых препаратов судили по выживаемости животных в течение 30 суток.

Результаты исследований. Результаты проведенных исследований показали, что облучение мышей в дозе 7,7 Гр вызывало 100 %-ную гибель не вакцинированных животных, средняя продолжительность жизни (СПЖ) которых при этом составляла 6,6 суток.

За 24 часа до облучения предварительная иммунизация животных радиозащитными препаратами обеспечивала 23,3 %-ную защиту (продукт метаболизма *E. coli* на ГПЭМ (препарат 3)) со СПЖ павших –14 суток. Препараты на основе продуктов метаболизма *E. coli* на МПБ (препарат № 1), продуктах метаболизма *E. coli* на бульоне Хоттингера (препарат № 2), обеспечивали защиту 50 и 66 % животных соответственно.

В отличие от варианта профилактического применения, введение этих же препаратов через 24 часа после облучения, оказывало на мышей более выраженное действие, в данном случае все препараты были эффективны, а именно препараты, приготовленные из культуральной взвеси *E. coli* на МПБ (препарат № 1) и ГПЭМ (препарат № 3), обладали 83 %-ной, а взвеси на основе бульона Хоттингера – 66 %-ной защитой.

Вторую серию опытов по изучению радиозащитной эффективности испытуемых препаратов проводили на белых крысах. Оптимальные дозы были оттитрованы в предварительных опытах. В опытах использовали 42 белых крыс, разделенных на 7 групп по 6 животных в каждой. Животных первых 3 групп иммунизировали за 10 суток до облучения испытуемыми препаратами. Антигены крысам вводили подкожно в объеме 0,5 мл на голову. Через 10 дней после иммунизации, животных 4, 5, 6 групп облучали гамма-лучами в дозе 9,0 Гр. Результаты наблюдений за опытыми животными показали, что наиболее высокая защита крыс от облучения достигается при предварительном введении препарата, полученного при культивировании *E. coli* на МПБ и бульоне Хоттингера – в этих случаях выживаемость составила 50 % при 100 %-ной гибели контроля облучения. Препарат, полученный при культивировании *E. coli* на основе ГПЭМ, обладал незначительной защитой (16,6 %). Подкожное введение этих же препаратов с лечебной целью через 10 суток после облучения оказывало на крыс более выраженное действие. Наиболее высокий лечебный эффект показал препарат, полученный на основе продуктов метаболизма *E. coli* на МПБ (препарат № 1) и ГПЭМ (препарат № 3), где в первом случае из 5 опытных животных выжило 3, а во втором – 2.

Розділ 8. Ветеринарна токсикологія. Якість і безпека продуктів тваринництва

Таким образом, результаты исследований по изучению радиозащитной активности биопрепаратов микробного происхождения, проведенных на 2-х видах лабораторных животных, показали, что они обладают радиозащитной активностью при дозах, вызывающих тяжелую степень лучевой болезни и предотвращают гибель животных.

Однако при этом установлено, что препараты, полученные на основе продуктов метаболизма *E. coli* на ГПЭМ (препарат № 3) и бульоне Хоттингера (препарат № 2), обладали более выраженными как профилактическими, так и лечебными свойствами в опытах на лабораторных (белые крысы и мыши) животных.

Выводы Таким образом, на 2-х видах лабораторных животных установлена принципиальная возможность успешной модификации лучевого поражения с помощью препаратов, полученных на основе продуктов метаболизма *E. coli*. При подкожном введении радиозащитных препаратов, полученных при культивировании *E. coli* на различных питательных средах, радиозащитный эффект составил от 50 до 80 % в зависимости от условий произрастания микробов. Полученный препарат может быть рекомендован для ветеринарной практики с целью повышения общей резистентности животных.

Список литературы

1. Андрищенко, В.Н. Противолучевое действие веществ микробного происхождения / В.Н. Андрищенко, А.А. Иванов, В.Н. Мальцев // Радиол. биол., радиозеол., 1996. – Т. 36. – Вып. 2. – С. 195-208. 2. Владимиров, В.Г. Радиопротекторы: структура и функция / В.Г. Владимиров, И.И. Красильников, О.В. Арапов // Киев: Наукова думка, 1989. – С. 259. 3. Иванов, А.А. Противолучевой защитный эффект гриппозной вакцины / А.А. Иванов, А.М. Уланова и др. // Иммуный статус человека и радиация; Тез. докл. Всесоюз. научн. конф. Гомель 1991. – М., 1991. – С. 158. 4. Мальцев, В.Н. Бактериотерапия острой лучевой болезни / В.Н. Мальцев, В.М. Коршунов, В.А. Стрельников // Радиобиология, 1978. – Т. 18. – Вып. 5. – С. 757-760.

USING OF SUBSTANCES OF MICROBIC ORIGIN TO RAISE RADIORESISTENCE OF ANIMALS

Nizamov R.N., Konykhov G.V., Sharifullina D.T., Nefyodova R.V., Vagin K.N., Rakhmatullina G.I.

Federal Center for Toxicological and Radiobiological Safety of Animals, Kazan

On the base of metabolism products of Escherichia coli grown on liquid nutrient medium, 3 variants of potentiation radio defending preparations were made. Radio defending activity testing of the obtained preparations on white mice and rats objected to irradiation lethal dose (7,7 Hr) and 9,0 Hr respectively showed that preparation 3, introduced to mice once subcutaneously in 0,1 ml dose both before (24 hours) and after irradiation provided survival rate up to 83 %. The same experiment on white rats irradiated with irradiation lethal dose of 9,0 Hr showed the most radio defense effect was in prophylactic usage of preparation 1 (24 h before irradiation) and in curative usage of the mentioned preparation, the survival rate was 50 per cent. The obtained preparation is recommend for treatment and prophylaxis of radiation injuries.

УДК 619:615.9:546.49

ПРИМЕНЕНИЕ ПРИРОДНЫХ СОРБЕНТОВ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЖИВОТНЫХ РТУТИ ДИХЛОРИДОМ

Папуниди К.Х., Новиков В.А., Шарафутдинова Д.Р.

ФГУ Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных, г. Казань

Среди химических веществ, циркулирующих в биосфере, особое место занимают тяжелые металлы, уровень техногенного воздействия которых в ряде регионов России достаточно высок. Загрязнение окружающей среды в основном происходит в результате деятельности предприятий черной и цветной металлургии, химической, нефтедобывающей, угольной промышленности, выбросов ртутьсодержащих промышленных и бытовых отходов [1, 4] Из тяжелых металлов наиболее токсичными являются ртуть и ее соединения. Как ультрамикроэлементы они присутствуют в воздухе, почве и воде, откуда постоянно с кормом и продуктами питания поступают в организм животных и человека. Несмотря на то, что за последние годы много сделано для уменьшения риска воздействия ртути на окружающую среду, опасность ее загрязнения остается открытым вопросом.

Доказано, что одним из наиболее эффективных методов детоксикации организма животных является энтеросорбция, основанная на связывании и выведении из желудочно-кишечного тракта эндогенных и экзогенных веществ [2, 5, 3, 6].

Интерес к проблеме использования минеральных сорбентов в качестве кормовых добавок и лечебно-профилактических препаратов ежегодно возрастает в связи с экологической напряженностью во многих регионах страны.

Учитывая вышеизложенное, изыскание эффективных и доступных энтеросорбентов при отравлении животных тяжелыми металлами, в том числе и ртутью, является актуальной задачей.

Материалы и методы. Опыты проводили на кроликах, разделенных по принципу аналогов на 3 группы. Животным всех групп ежедневно давали корм, загрязненный ртутью дихлоридом в дозе 5 МДУ. Кролики первой группы служили контролем (без лечения), второй – давали бентонит в количестве 2 % от основного рациона, третьей – цеолит в дозе 0,2 %.

Перед заправкой, затем на 10, 20 и 30 день эксперимента проводили исследования крови, включающие определение содержания эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов по общепринятым методам.

Уровень общего белка в сыворотке крови устанавливали на рефрактометре ИРФ – 22, белковых фракций – методом Олла и Маккарда в модификации Карпюка С. А. (1962), сульфгидрильных групп – колориметрическим методом.

В конце опыта определяли содержание ртути в органах атомно-абсорбционным методом на анализаторе «Юлия-5К».

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту.

Результаты исследований. При скормливания кроликам на протяжении 30 сут корма, загрязненного ртутью дихлоридом клинические признаки отравления отсутствовали.

Воздействие на животных ртути снижало количество эритроцитов на 10, 20 и 30 сут на 4; 5 и 16 %; лейкоцитов – на 13; 21 и 20 %; гемоглобина – на 11; 23 и 26 % по сравнению с фоновыми величинами. В лейкоформуле крови отравленных кроликов наблюдали уменьшение содержания эозинофилов на 20 и 30 сут на 11 и 26 %; моноцитов – на 15 и 10 %; лимфоцитов – на 19 и 26 %; увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов – на 16 и 17 %; сегментоядерных нейтрофилов – на 20 и 30 %, соответственно.