

Ржепаковский И.В., Тимченко Л.Д., Писков С.И., Духина Л.Л., Арешидзе Д.А., Аванесян С.С., Сизоненко М.Н., Козлова М.А.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА НОВОГО ТКАНЕВОГО ПРЕПАРАТА «НИКА-ЭМ»

Ключевые слова: тканевые препараты, оценка качества препарата, биологическая активность, эмбриональные ткани птиц

Резюме: Объективная характеристика тканевых препаратов на основе эмбриональных тканей требует оценки их качества, как с учетом общих обязательных требований, изложенных в регламентирующих документах по проверке лекарственных средств на основе сырья животного происхождения, так и показателей, учитывающих биохимические особенности эмбрионального сырья и специфику технологических манипуляций. Проведена оценка нового тканевого препарата «НИКА-ЭМ», полученного на основе эмбриональных тканей птиц. Использованы общепринятые критерии и современные инновационные приемы оценки качества препаратов. Принципиальными моментами исследования являлись: оценка физико-химических свойств препарата, степени гомогенизации и диспергирования субстанций, а также интегративный подход к определению биологической активности препарата через расчет адаптационного потенциала печени как тест-системы. Изучен ряд характеристик, позволяющих препарату «НИКА-ЭМ» претендовать на стандартизацию в качестве эффективного биологически активного тканевого препарата.

Введение

Сегодня одной из перспективных групп биопрепаратов считаются тканевые, принципиальной особенностью которых является технологический подход к их изготовлению, позволяющий рассчитывать на наличие в препаратах такого важнейшего действующего начала, как «биогенные стимуляторы». Кроме того, тканевые препараты отличаются структурной оригинальностью и своим многокомпонентным составом. Наличие широкого перечня и оптимальной концентрации биологически активных веществ обеспечивают полинаправленное действие тканевых препаратов и подтверждаются значительной эффективностью при различных патологиях [1]. Однако именно вышеназванные свойства тканевых препаратов, как впрочем, и любых поликомпонентных средств, вкупе с отсутствием четкой системы объективной оценки их биологической активности и обуславливают существенные сложности в процессе оценки их качества и, как следствие, проблемы стандартизации. Это особенно важно для новых разрабатываемых тканевых препаратов, как в процессе их экспериментальных исследований, так и в последующем при их производственном контроле, на основании которого регламентируются их характеристики.

Одним из новых тканевых препаратов является «НИКА-ЭМ», полученный на основе эмбриональных тканей птиц [2]. Это

перспективное терапевтическое средство, которое по предварительным данным обладает иммуномодулирующими свойствами [3], гепатопротективным действием [4] и выраженным противовоспалительным эффектом [5]. Однако, несмотря на проведенные исследования, остаются не изученными основные характеристики качества тканевого препарата «НИКА-ЭМ», которые могли бы быть использованы в качестве регламентирующих при его производстве, что и обусловило проведение настоящего исследования.

Материалы и методы исследований

С целью оценки качества тканевого препарата «НИКА-ЭМ» использовались как общепринятые методы определения качества лекарственных средств, получаемых на основе животного сырья [6], так и современные инновационные приемы [7].

Определялись физико-химические характеристики препарата, в том числе внешний вид (описание, прозрачность и степень мутности, окраска, механические включения), pH, плотность, сухой остаток, размер частиц в растворе, дзета-потенциал. Измерялось общее количество белка, нуклеиновых кислот, аминный азот. Оценивались стерильность препарата, наличие бактериального эндотоксина и аномальная токсичность. Проводилось исследование его биологической активности.

Изучение свойств нового тканевого

препарата «НИКА-ЭМ» (серия 20 от 10 февраля 2015 г) проводилось в сравнении с препаратом «СТЭМБ» на основе эмбриональных тканей (серия 170 от 21 апреля 2015 г) уже показавшим свою эффективность на практике [8, 9]. Из исследуемой серии каждого препарата отбиралось по 2 флакона, и оценивались средние пробы.

Прозрачность, степень мутности, окраска определялись путем сравнения испытуемых препаратов с соответствующими эталонами визуально. Для потенциометрического определения pH препарата использовали pH-метр FG2-Kit (Mettler Toledo). Измерение плотности препарата осуществляли расчетным способом с применением пикнометра с точностью до $\pm 0,001 \text{ г/см}^3$.

Сухой остаток (потеря в массе при высушивании) измеряли с помощью весового влагомера Ohaus MB 25 при 75°C. Дзета-потенциал и размеры частиц препарата регистрировали методом электрофоретического рассеяния света с помощью анализатора Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания), предоставленного научно-производственным объединением «СайТЭК» г. Ставрополь.

Количественную оценку общей концентрации белков в образцах проводили спектрофотометрическим методом с измерением оптической плотности исследуемых растворов при длинах волн 280 и 260 нм после соответствующего разбавления [10]. Измерения проводились в спектрофотометре СФ-102 (ИФФ) в кварцевых кюветках с толщиной слоя жидкости 1 см.

Определение содержания нуклеиновых кислот, основанное на расчете разности оптической плотности, применяемых для уменьшения влияния различных примесей в исследуемых растворах [11], включало экстракцию нуклеиновых кислот 0,5н хлорной кислотой на водяной бане, центрифугирование экстракта и измерение оптической плотности в ультрафиолете при длине волн 270 и 290 нм.

Определение содержания аминного азота проводили методом формольного титрования, основанным на блокировании формальдегидом при pH 7,0 свободных аминогрупп и титровании щелочью эквивалентного количества карбоксильных групп.

Стерильность препарата оценивалась с использованием метода мембранной фильтрации. Определение содержания бактериальных эндотоксинов проводилось с помощью ЛАЛ-теста в соответствии с требованиями ОФС Государственной фармакопеи.

Исследование аномальной токсичности препаратов проводилось на аутбредных мышах обоего пола весом $20 \pm 2,0 \text{ г}$. После двухнедельного карантина животные были разделены на 3 группы по пять животных каждого пола в группе. Животным первой группы вводили 0,9% раствор хлорида натрия в дозе 0,5 мл однократно в хвостовую вену, мышам второй группы – препарат «НИКА-ЭМ», третьей группе – препарат «СТЭМБ» в дозе 0,1 мл. Тест дозы исследуемых препаратов доводили 0,9% раствором хлорида натрия до 0,5 мл и вводили однократно в хвостовую вену. После введения исследуемых веществ животные находились под наблюдением в течение 48 часов.

Биологическую активность изучаемого препарата определяли по методу Areshidze D.A. **через оценку адаптационного потенциала клеток печени.** Для этого использовали самцов белых крыс линии Вистар массой $300 \pm 20 \text{ г}$, из которых были сформированы две опытные группы по 30 животных в каждой. Крысам первой группы подкожно вводили физиологический раствор 0,9% натрий хлористый. Животным второй группы подкожно вводили тканевой препарат «НИКА-ЭМ», в дозе 0,1 мл на кг живой массы трехкратно с интервалом 7 суток. В аналогичной дозе животным третьей группы подкожно вводили препарат «СТЭМБ». По завершению эксперимента животных декапитировали и отбирали печень для гистологического исследования. Из большой доли печени вырезали образцы ткани толщиной 5x5 мм. Кусочки органа фиксировали в 10% растворе формалина с последующей заливкой в парафин Гистомикс (Biovitrum). Гистологические срезы печени толщиной 6-7 мкм осуществляли на санном микротоме MC-2 и окрашивали гематоксилином и эозином. Определяли площадь поперечного сечения и объем ядер гепатоцитов при помощи комплекса визуализации на базе прямого исследовательского микроскопа Axio Imager 2 (A2) (Carl Zeiss Microscopy). Визуализацию изображения проводили при помощи специализированной фотокамеры Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss Microscopy) в программном обеспечении Zena 2012 Pro и программе «Морфовидеотест 4.0», «Image Scope Video 1.0». Измерения проводили в микрометрах после предварительной геометрической калибровки по оцифрованной с тем же увеличением шкале объективом микротометра.

Для расчёта объёма ядер первоначаль-

но определяли коэффициент элонгации ядер. Затем производили разбивку полученных данных на классы. Число классов определялось как разница между $x_{\max}$ и $x_{\min}$, делённая на величину ошибки метода измерения. Для дальнейшего анализа вычислялись *информационная морфологическая ёмкость* ($H_{\max}$) т.е. максимальное структурное разнообразие, производился расчёт *реального структурного разнообразия* (H), иллюстрирующего степень детерминированности морфофункциональной системы во времени и пространстве. Рассчитывалась *организация системы* (S), т.е. разница между максимально возможным и реальным структурным разнообразием, отражающая состояние адаптационных возможностей системы на данный момент. Определялся *коэффициент относительной энтропии системы* (h), увеличение которого свидетельствует о неупорядоченности системы и значительном снижении уровня её структурной целостности. Производился расчёт *коэффициента относительной организации системы* (R). Степень биологической активности тканевых препаратов определялась по отклонению величин параметров H , S , h и R от значений контроля. Об успешности биостимуляции свидетельствует повышение величин H и h от 1 до 5% и понижение S и R от

3 до 16 % от контроля. Причем чем больше показатели H и h и меньше S и R , тем больше эффект биостимуляции [12].

Все анализы были выполнены с использованием статистического пакета для социальных наук (SPSS) для Windows, версия 11.0. Данные были представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартное отклонение. Разница между контрольной и экспериментальной группами была проанализирована с помощью теста Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют, что оба препарата по основным физико-химическим показателям соответствуют общепринятым нормативам для средств на основе природного сырья (табл. 1).

Вместе с тем согласно сравнительным данным наиболее однородным по внешнему виду и стабильным оказался тканевой препарат «НИКА-ЭМ». При относительно одинаковых значениях дзета-потенциала и pH **средний размер частиц в растворе** препарата «НИКА-ЭМ», отражающий степень его диспергирования оказался в четыре раза меньше, нежели в препарате сравнения. Это обеспечивает препарату «НИКА-ЭМ» свойства наносубстанции и не исключает усиления специфичности

Таблица 1. Физико-химические показатели качества биопрепаратов «НИКА-ЭМ» и «СТЕМБ»

Показатели (n=5)	Препарат «СТЕМБ»	Препарат «НИКА-ЭМ»
Внешний вид, описание, прозрачность, цветность, механические включения	Опалесцирующая жидкость желтого цвета, с белым хлопьевидным осадком	Опалесцирующая жидкость желтого цвета, без осадка
Размер частиц в растворе, нм	450 $\pm$ 29	104,2 $\pm$ 7,0*
Сухой остаток	3,33 $\pm$ 0,2	2,9 $\pm$ 0,2
pH	6,0 $\pm$ 0,1	6,4 $\pm$ 0,1
Плотность (20°C)	1,012 $\pm$ 0,0001	1,010 $\pm$ 0,0001
Дзета-потенциал (коллоидная стабильность), mV	минус 8,01 $\pm$ 0,2	минус 8,76 $\pm$ 0,1
Общая концентрация белка, г/л	50 $\pm$ 2,0	20,0 $\pm$ 2,0*
Общая концентрация нуклеиновых кислот, мг%	1,2 $\pm$ 0,08	2,3 $\pm$ 0,09*
Аминный азот, мг%	19 $\pm$ 1,2	10,9 $\pm$ 0,6*

Примечание: * – достоверность различий показателей

его биологического действия.

Образцы как препарата «НИКА-ЭМ», так и «СТЭМБ» были стерильными. При инкубации фильтров на питательной среде на протяжении 14 суток роста микроорганизмов зарегистрировано не было. Количество бактериального эндотоксина в сравниваемых препаратах также не имело достоверных отличий и соответствовало нормативам для инъекционных форм лекарственных средств.

Обеспечивающее биологическую активность препаратов, количество белка и свободных аминокислот оказалось в три раза больше в препарате «СТЭМБ», а концентрация нуклеиновых кислот была в два раза больше в препарате «НИКА-ЭМ». Это и объясняет лучшие реологические характеристики и стабильность препарата «НИКА-ЭМ» по сравнению с препаратом «СТЭМБ», характеризующимся наличием выраженной мутности и обильного осадка, обусловленных фракцией крупных

белков.

Ни в одной из групп животных после введения тест дозы препарата не наблюдалось гибели на протяжении 48 часов, что свидетельствует об отсутствии признаков аномальной токсичности исследуемых препаратов. Результаты расчета информационных показателей, отражающих адаптационно-регенераторный потенциал печени, подтверждают, что исследуемые препараты обладают биологической активностью (табл. 2).

Реальное структурное разнообразие H (бит) в группах, которым применялись препараты «СТЭМБ» и «НИКА-ЭМ», увеличилось соответственно на 1,91 и 3,18% по сравнению с контролем. *Организация системы S (бит)* уменьшилась соответственно на 6,36 и 10,2%. *Коэффициент относительной энтропии системы* (коэффициент сжатия информации) (h) в группах, которым применялись препараты «СТЭМБ» и «НИКА-ЭМ» в сравнении

Таблица 2. Информационные показатели печени белых крыс под влиянием тканевых препаратов «НИКА-ЭМ» и «СТЭМБ»

Группы, (n=30)	Информационные показатели				
	$H_{\max}$ (бит)	H (бит)	S (бит)	h (бит)	R (%)
1 группа – контроль	3,32±0,002	2,52±0,02	0,80±0,01	0,7585±0,004	24,15±0,41
2 группа – препарат «НИКА-ЭМ»	3,32±0,002	2,57±0,01*	0,75±0,01*	0,7739±0,005*	22,61±0,59*
3 группа – препарат «СТЭМБ»	3,32±0,002	2,6±0,02*	0,72±0,012*	0,7831±0,006*	21,69±1,1*

Примечание: * – достоверность различий показателей по отношению к контрольной группе.

с контролем, увеличился на 2,05 и 3,24%, а *коэффициент относительной организации системы* (коэффициент избыточности) (R) уменьшился на 6,38 и 10,19%, соответственно. Это свидетельствуют о том, что тканевые препараты «СТЭМБ» и «НИКА-ЭМ» характеризуются высокой степенью биологической активности. При этом почти в два раза превосходящее увеличение показателей H , h и **уменьшение** S и R на фоне применения препарата «НИКА-ЭМ» по сравнению с аналогичными показателями при использовании препарата «СТЭМБ» указывает на его больший уровень биостимулирующего эффекта.

Заключение

Таким образом, проведена качественная оценка тканевого препарата «НИКА-ЭМ» на основе эмбриональной ткани птиц по 12 параметрам, выбранным с учетом биохимических особенностей сырья и специфики технологического цикла. Принципиальным моментом методологической схемы являлось определение степени гомогенизации и диспергирования субстанций, а также интегративный подход к оценке биологической активности препарата на организм, через расчет адаптационного потенциала печени, как тест-системы. На основе проведенных аналитических и экспериментальных исследований изучен

комплекс характеристик, позволяющих претендовать препарату «НИКА-ЭМ» на стандартизацию в качестве эффективного биологически активного тканевого препарата полинаправленного действия.

Библиографический список:

1. Areshidze D.A. Anti-inflammatory effect of NICA-EM in rodent models of acute inflammation / D.A. Areshidze, L.D. Timchenko, I.V. Rzhepakovsky, M.A. Kozlova, I.A. Syomin // Pharmacologyonline. – 2015. – Vol. 3. – P. 76- 83.
2. Пат. № 2560845 Российская федерация. Способ приготовления низкомолекулярного комплекса активированного эмбрионального (НИКА-ЭМ) / Л.Д. Тимченко, И.В. Ржепаковский, В.Н. Вакулин, Г.Н. Блажнова, заявитель и патентообладатель Северо-Кавказский федеральный университет – опубл. 20.08.2015, Бюл. №23.
3. Дерезина Т.Н. Применение нового биопрепарата «НИКА-ЭМ» для профилактики осложнений послеродового периода у коров и патологий иммунологического статуса телят / Т.Н. Дерезина, Т.М. Овчаренко, Л.Д. Тимченко, И.В. Ржепаковский // Научно-практические рекомендации, – пос. Персиановский, 2015. – 32 с.
4. Areshidze D.A. Influence of the tissue preparation «nica-em» on morphofunctional condition of a liver of rats at norm and at experimental non-alcoholic steatohepatitis / D.A. Areshidze, L.D. Timchenko, I.V. Rzhepakovsky, M.A. Kozlova, I.A. Syomin // Pharmacologyonline. – 2015. – Vol. 2. – P. 108- 117.
5. Areshidze D.A. Mast cells of thymus, adrenal glands and liver at the acute experimental inflammation and its correction by preparation NICA-EM / D.A. Areshidze, L.D. Timchenko, I.V. Rzhepakovsky, M.A. Kozlova, I.A. Syomin G.N Blazhnova, N.I Bondareva // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – Vol. 7(2). – P. 1620-1629.
6. Государственная фармакопея Российской Феде-

Исследование проведено при финансовой поддержке Минобрнауки России, в рамках выполнения базовой части государственного задания (2014/216).

- рации. – 12-е изд. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения. – 2008. – Ч. 1. – С. 160-180.
7. Areshidze D.A. Use of information parameters as criterion for determination of biological activity of hepatoprotective preparations / D.A. Areshidze, L.D. Timchenko, M.A. Kozlova, I.V. Rzhepakovsky, I.A. Syomin // Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences. – Vol. 6(2). – 2016. – P. 61-71. Патент № 2197251 РФ.
8. Пат. 2197251 Российская федерация. Способ приготовления биостимулятора эмбрионального / Тимченко Л.Д., Ржепаковский И.В., Михайленко В.В., Л.А. Гнездилова, Л.И. Коляда – Оpubл. 27.01.2003.
9. Ржепаковский И.В. Разработка биостимулятора эмбрионального и оценка его эффективности при иммунодефицитных состояниях у животных раннего возраста: автореф. дис. ... канд. биол. наук / И.В. Ржепаковский. – Краснодар, 2003. – 24 с.
10. Досон Р. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс. – М.: Мир, 1991. – С. 464-465.
11. Кармалиев Р.Х. Современные биохимические методы исследования в ветеринарии и зоотехнике / Р.Х. Кармалиев // – М.: Колос, 1971. – С. 44-46.
12. Areshidze D.A. Use of information parameters as criterion for determination of biological activity of hepatoprotective preparations / D.A. Areshidze, L.D. Timchenko, M.A. Kozlova, I.V. Rzhepakovsky, I.A. Syomin // Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences. – 2016. – Vol. 6(2). – P. 61-71.

References:

1. Vide supra.
2. Pat. № 2560845 Rossiiskaya federaciya. Sposob prigotovleniya nizkomolekulyarnogo kompleksa aktivirovannogo embrionalnogo, NIKA-EM [Method of preparation of low-molecular complex of activated embryonic (NIKA-EM)] / L.D. Timchenko, I.V. Rjepakovskii, V.N. Vakulin, G.N. Blajnova, zayavitel i patentoobladatel Severo-Kavkazskii federalnii universitet – opubl. 20.08.2015 – Byul. №23.
3. Derезina T.N. Primenenie novogo biopreparata «NIKA-EM» dlya profilaktiki oslojnenii poslerodovogo perioda u korov i patologii immunologicheskogo statusa telyat [Application of new biological preparation «NIKA-EM» for the prevention of complications of the postpartum period in cows and pathologies of the immunological status of calves] / T.N. Derезina, T.M. Ovcharenko, L.D. Timchenko, I.V. Rjepakovskii // Nauchno-prakticheskie rekomendacii. – pos. Persiанovskii, 2015. – 32 s.
- 4-5 Vide supra.
6. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federacii [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation] – 12-e izd. – M. – Nauchnii centr ekspertizy sredstv medicinskogo primeneniya. –

2008. – Ch. 1. – S. 160-180.
7. Vide supra.
8. Pat. 2197251 Rossiiskaya federaciya. Sposob prigotovleniya biostimulyatora embrionalnogo [Method of preparation of the biostimulator embryonic] / L.D. Timchenko, I.V. Rjepakovskii, V.V. Mihailenko, L.A. Gnezdilova, L.I. Kolyada. – Opubl. 27.01.2003.
9. Rjepakovskii I. V. Razrabotka biostimulyatora embrionalnogo i ocenka ego effektivnosti pri immunodeficitnih sostoyaniyah u jivotnih rannego vozrasta [Development of the biostimulator embryonic and evaluation of its effectiveness in conditions of immunodeficiency in animals early age]: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Krasnodar – 2003. – 24 s.
10. Doson R. Spravochnik biohimika [Handbook of biochemist] / R. Doson, D. Elliot, U. Elliot, K. Djons. – M.: Mir, – 1991. – S. 464-465.
11. Karmaliev R.H. Sovremennye biohimicheskie metody issledovaniya v veterinarii i zootehnike [Modern biochemical methods of research in our veterinary and zootechnolgy] / R.H. Karmaliev. – M.: Kolos – 1971. – S. 44-46.
12. Vide supra.

Rzhepakovsky I.V., Timchenko L.D., Piskov S.I., Dukhina L.L., Areshidze D.A., Avanesyan S.S., Sizonenko M.N., Kozlova M.A.

QUALITY ASSESSMENT OF A NEW TISSUE PREPARATION «NIKA-EM»

Key Words: tissue preparations, preparation quality assessment, avian embryonic tissues

Abstract: The objective characteristics of the tissue preparation based of fetal tissues requires the evaluation of their quality, both with regard to the general mandatory requirements laid down in regulatory documents to verify the preparations based on animal origin raw materials, as well as indicators taking into account the biochemical features of embryonic materials and specificity of technological manipulation. An assessment of the new tissue preparation «NIKA-EM», obtained on the basis of embryonic tissues of birds. We used common criteria and modern innovative methods of assessing the quality of drugs. The fundamental point of the study was evaluation of the physicochemical properties of the preparation, the degree of homogenization and dispersion of substances, as well as an integrative approach to the determination of the biological activity of the preparation in the body, through the calculation of adaptive capacity of the liver, both test systems. Studied a number of characteristics that allow the preparation «NIKA-EM» qualify for standardization as an effective biologically active tissue preparation.

Сведения об авторах:

Ржепаковский И.В., канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник проблемной научно-исследовательской лаборатории (ПНИЛ) «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии, иммунобиотехнологии» центра коллективного пользования научным оборудованием ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет»; д. 1, ул. Пушкина, г. Ставрополь, Россия, 355009; e-mail: 78igor@mail.ru

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор вет. наук, профессор, заведующая проблемной научно-исследовательской лабораторией (ПНИЛ) «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии, иммунобиотехнологии» центра коллективного пользования научным оборудованием ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет»; д. 1, ул. Пушкина, г. Ставрополь, Россия, 355009; e-mail: l_timchenko@mail.ru

Писков Сергей Иванович, канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник проблемной научно-исследовательской лаборатории (ПНИЛ) «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии, иммунобиотехнологии» центра коллективного пользования научным оборудованием ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет»; д. 1, ул. Пушкина, г. Ставрополь, Россия, 355009; e-mail: piskovsi77@mail.ru

Духина Лариса Леонидовна, магистрант 2-го года обучения кафедры физики, математики и биотехнологии ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет».

Арешидзе Давид Александрович, канд. биол. наук, заведующий лабораторией экспериментальной биологии и биотехнологии НОЦ ГОУ МО «Московский государственный областной университет», e-mail: Nihilist78@mail.ru

Аванесян Светлана Суреновна, старший научный сотрудник проблемной научно-исследовательской лаборатории (ПНИЛ) «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии, иммунобиотехнологии» центра коллективного пользования научным оборудованием ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет»; д. 1, ул. Пушкина, г. Ставрополь, Россия, 355009

Сизоненко Марина Николаевна, младший научный сотрудник проблемной научно-исследовательской лаборатории (ПНИЛ) «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии, иммунобиотехнологии» центра коллективного пользования научным оборудованием ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет»; д. 1, ул. Пушкина, г. Ставрополь, Россия, 355009; e-mail: risha_veresk@mail.ru

Козлова Мария Александровна, младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной биологии и биотехнологии НОЦ ГОУ МО «Московский государственный областной университет»; e-mail: kozozaka@mail.ru

Author affiliation:

Rzhepakovsky I.V., Ph.D. of Biology, Associate Professor, Leading Researcher of problem scientific-research Laboratory «Experimental immunomorphology, immunopathology, immunobiotechnology» in the Center for collective use of scientific equipment FSAEI of HPE «North-Caucasian Federal University», 1, Pushkin str., Stavropol, Russia, 355009; e-mail: 78igor@mail.ru

Timchenko L.D., D.Sc. in Veterinary Medicine, Professor, Head of problem scientific-research Laboratory «Experimental immunomorphology, immunopathology, immunobiotechnology» in

the Center for collective use of scientific equipment FSAEI of HPE «North-Caucasian Federal University», 1, Pushkin str., Stavropol, Russia, 355009; e-mail: l_timchenko@mail.ru

Piskov S.I., Ph.D. of Biology, Leading Researcher of problem scientific-research Laboratory «Experimental immunomorphology, immunopathology, immunobiotechnology» in the Center for collective use of scientific equipment FSAEI of HPE «North-Caucasian Federal University», 1, Pushkin str., Stavropol, Russia, 355009; e-mail: piskovsi77@mail.ru

Dukhina L.L., Graduate student of the second year of training of the Department of physics, mathematics and biotechnology SBEI HPE «Stavropol State Medical University»

Areshidze D.A., Ph.D. of Biology, Head of the Laboratory of experimental biology and biotechnology of scientific-educational Center of the state educational Institutions of the Ministry of education of «Moscow State Regional University»; e-mail: Nihilist78@mail.ru

Avanesyan S.S., Senior Researcher of problem scientific-research Laboratory «Experimental immunomorphology, immunopathology, immunobiotechnology» in the Center for collective use of scientific equipment FSAEI of HPE «North-Caucasian Federal University», 1, Pushkin str., Stavropol, Russia, 355009

Sizonenko M.N., Junior Researcher of problem scientific-research Laboratory «Experimental immunomorphology, immunopathology, immunobiotechnology» in the Center for collective use of scientific equipment FSAEI of HPE «North-Caucasian Federal University», 1, Pushkin str., Stavropol, Russia, 355009; e-mail: risha_veresk@mail.ru

Kozlova M.A., Junior Researcher of the Laboratory experimental biology and biotechnology of scientific-educational Center of the state educational Institutions of the Ministry of education of «Moscow State Regional University»; e-mail: kozozaka@mail.ru

УДК 591.2

Пронина Г.И., Корягина Н.Ю.

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ГИДРОБИОНТОВ ПРИ ПАТОЛОГИИ

Ключевые слова: речные раки, рыбы, аксолотли, изменения клеток крови, лейкопоз, патология.

Резюме: Проведено изучение морфологических изменений клеток и их процентное соотношение в циркулирующих жидкостях гидробионтов: гемолимфе или крови при патологии. Исследовались речные раки – *Astacus astacus*, рыбы: карась – *Carassius gibelio*, карп – *Cyprinus carpio* L., аксолотли – *Ambystoma mexicanum*. Определялись: гемоцитарная и лейкоцитарная формула, цитохимический показатель лизосомального катионного белка в фагоцитах. Выявлено, что при ржавопятнистом заболевании речных раков происходит увеличение содержания катионного белка в лизосомах гемоцитов примерно в 2 раза. Изменения 15-20% клеток крови молоди карпа с жировой дистрофией печени выражаются в разрушении и деформации эритроцитов, вакуолизации и эозинофилии их цитоплазмы эритроцитов; цитолизе и кариорексисе нейтрофилов и эозинофилов. При этом отмечается снижение доли зрелых нейтрофилов за счет увеличения эозинофилов (с 0,3 до 1,0%) в лейкограмме. У карасей с неполным альбинизмом – прозрачным чешуйчатым покровом отмечается слабая осмотическая резистентность мембран клеток крови, что проявляется микроскопически в их лизисе при окраске по Паппенгейму. У карпов со слабым креплением чешуи, вероятно, врожденное свойство, повышен процент нейтрофилов в лейкограмме, но снижено содержание лизосомального катионного белка, отражающего неспецифический кислород независимый клеточный иммунитет. У аксолотлей с нарушениями регенерации конечности в лейкограмме примерно 2 раза увеличена доля миелобластов – усиление лейкопоза и эозинофилов с 6,3% (в контрольной группе) до 13,1%.