

**«Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии»,
ОАЭ (Дубай), 16–23 октября 2015 г.**

Биологические науки

ДОЛИ ЛЕГКИХ У ДЕГУ

Петренко В.М.

Санкт-Петербург, e-mail: deptanatomy@hotmail.com

Форма и топография легких у дегу не описаны в литературе. Описание легких человека существенно не изменилось со времен Базельской анатомической номенклатуры (1895). Эти органы находятся в грудной полости, имеют конусовидную форму, основание и верхушку, поверхности – диафрагмальную, реберную и медиальную (позвоночная и медиастинальная части). Глубокие щели разделяют правое легкое на три доли – верхнюю, среднюю и нижнюю. Средняя доля отсутствует в левом легком, ей соответствует язычок левого легкого, над ним на переднем крае определяется сердечная вырезка (Международная анатомическая терминология, 1998). У белой крысы левое легкое на доли не разделяется, а правое легкое имеет 4 доли – краниальную, среднюю, каудальную и добавочную, последние две разделены бороздой каудальной полой вены (Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., 2001). К этому следует добавить, что у белой крысы сердечная вырезка определяется на вентральном крае правого легкого, а левое легкое состоит из 2 долей, краниальной и каудальной (Петренко В.М., 2009).

Я отпрепарировал легкие у 10 дегу 3 мес обоего пола после их фиксации в 10% фор-

малине. Легкие находятся в грудной полости, по обе стороны от сердца (каудально) и тимуса (краниально). Легкие дегу, особенно левое, имеют форму конуса, уплощенного и вогнутого с медиальной стороны. Глубокие щели разделяют легкие на доли. Левое легкое имеет 3 доли – апикальную (краниальную), среднюю и базальную (каудальную). Правое легкое имеет 4 доли, в т.ч. 2 базальные, разделенные задней полой веной: более крупная латеральная залегает под средней долей, меньшая медиальная находится между сердцем и диафрагмой. Верхушки правого и левого легких прилегают к основанию тимуса. Между их апикальными долями находятся правое и левое предсердия. Желудочки сердца расположены на уровне средних и (правой латеральной) базальных долей легких. Сердечная вырезка определяется на вентральном крае апикальной и средней долей левого легкого. Его язычок примыкает слева к верхушке сердца, образован вентрокаудальным выступом средней доли. Слева (латерально) язычок левого легкого отделяется косой щелью от базальной доли левого легкого. В основаниях легких их базальные доли ограничивают острый угол, открытый в дорсальную сторону. Через вершину этого угла, ограниченную медиальной базальной долей правого легкого и базальной долей левого легкого, проходит пищевод.

Ветеринарные науки

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕНА
ВЛКРС ИЗ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЛЕЙКОЗОМ
КОРОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ИММУНОХИМИИ**

Джакаит Д.А., Якупов Т.Р.

*ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия
ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»,
Казань, e-mail: talgaty@mail.ru*

В статье описаны способ получения антигена ВЛКРС из крови больных лейкозом коров и результаты исследований по изучению его качества. В сыворотке крови, в циркулирующих иммунных комплексах инфицированных ВЛКРС коров присутствуют различные белковые фракции вирионов. Разработанный способ позволяет их экстрагировать и использовать в качестве антигена в иммунохимических реакциях для диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Выделенный антиген не уступает по специфичности антигену gp51 применяемому в коммерческих наборах для ИФА, а по чувствительности превосходит.

Для ликвидации и профилактики лейкоза крупного рогатого скота, необходимо своевременное выявление инфицированных животных путем анализа наличия противолейкозных антител в сыворотке крови. В настоящее время согласно стандартам МЭБ (Международное Эпизоотическое Бюро) узаконенными методами диагностики лейкоза крупного рогатого скота являются реакция иммунодиффузии в геле агара (РИД) и методы ИФА [3].

ВЛКРС обладает выраженной антигенной активностью. В организме крупного рогатого скота антитела вырабатываются преимущественно на структурные белки вириона [2]. Хотя и считается, что диагностическое значение имеют антитела против gp51 и p24, у зараженных животных в крови циркулируют антитела к p24, p15, p12, p10, gp30, gp51 и др [4, 5]. В количественном соотношении они могут коррелировать со стадией инфекционного процесса [1]. Кроме того, доказано, что на разных стадиях развития иммунитета, при лейкозе крупного рогатого ско-

та меняется и спектр свободно циркулирующих в сыворотке крови антител, и обнаруживаются антитела не только основным белкам вириона, но и продуктам их расщепления. Все эти данные свидетельствуют о необходимости комплексного подхода при определении как антигенов вируса, так и антител к ним в серологической диагностике лейкоза крупного рогатого скота. Необходимо также отметить, что существующие методы диагностики не учитывают генетическое многообразие возбудителя болезни.

Учитывая тот факт, что основным сдерживающим фактором при разработке иммунохимических методов анализа является качество используемого антигена, целью настоящей работы являлась изучение антигенных свойств белковых фракций ВЛКРС выделенных из сыворотки крови инфицированных и больных лейкозом коров.

Материалы и методы исследования. Положительные и отрицательные контрольные сыворотки коммерческих наборов по определению антител к ВЛКРС методом ИФА; сыворотки крови крупного рогатого скота из неблагополучных по лейкозу хозяйства РТ; набор для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотке крови и молоке методом ИФА производства ФГУП «Курская биофабрика»; буферные растворы и реактивы для постановки ИФА; циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) выделяли методом преципитации в полиэтиленгликоле (ПЭГ); иммуноферментный анализ ставили в непрямом твердофазном варианте.

Результаты исследования и их обсуждение. При выделении антигена ВЛКРС из сывороток крови больных лейкозом коров исходили из того, что вирусные частицы главным образом содержатся в составе ЦИК [6, 7]. Технологию разрабатывали с учетом необходимости диссоциации ЦИК и избавления от сывороточных антител и всех остальных белков.

Получение антигена ВЛКРС из сывороток крови. Условно можно выделить 3 основные стадии:

1. Выделение ЦИК. Сыворотку крови от больных лейкозом коров в объеме не менее 500 мл смешивают раствором ПЭГ-6000 в 0,1М боратном буфере (рН-8,8) до 3% конечной концентрации. Перемешивают и оставляют на 24 часа при +4°C, по истечении этого времени центрифугируют 10 мин при 3000 об./мин. Су-

пернатант сливают, а осадок растворяют в 5-ти кратном объеме 3% раствора ПЭГ-6000 в боратном буфере и вновь центрифугируют в тех же условиях (промывка).

2. Диссоциация ЦИК и удаление глобулинов. Полученный осадок, содержащий ЦИК с компонентами вируса, растворяют в 3-х кратном объеме дистиллированной воды и выдерживают, периодически перемешивая, 1 час при 60°C. По истечении этого времени пробу смешивают равным объемом насыщенного раствора сульфата аммония, осторожно перемешивают в течение 2–3 минуты и центрифугируют.

3. Выделение и очищение антигенного препарата. Надосадочную жидкость осторожно отделяют и диализируют при комнатной температуре в течение 48 часов против дистиллированной воды. Фильтруют через бумажный фильтр и концентрируют (не менее в 10 раз) против силикагеля L 100/250 для хроматографии.

Изучали электрофоретическую подвижность полученных антигенных фракций в 12,5% полиакриламидном геле, а также проводили иммуноблот анализ полученных фракций с сывороткой крови инфицированных и больных лейкозом коров.

Полученные результаты показали, что полученный антиген является комплексным, содержащим различные белковые фракции вируса лейкоза. На электрофореграммах были обнаружены фракции с молекулярными массами от 14 до 160 и более кД. Как показали результаты иммуноблот анализа, в зависимости от стадии инфекционного процесса против каждой из них образуются антитела.

Антигенные свойства выделенных белковых фракций вирусных частиц изучали в ИФА с использованием сывороток крови инфицированных ВЛКРС и больных лейкозом коров. Всего исследовали более 100 проб сывороток крови. Результаты исследований представлены в табл. 1 и 2.

Результаты ИФА с использованием исследуемого антигена и коммерческого набора в целом совпали. Всего исследовано 100 проб сывороток крови, и как видно из представленных результатов, различия в показателях двух проб, которые при ИФА с коммерческим набором показали отрицательные, а с исследуемым антигеном – положительные результаты.

Таблица 1

Результаты ИФА проб сывороток крови

	Имуноферментный анализ с использованием			
	Исследуемого антигена		Коммерческого набора	
Пробы сывороток крови	Положит-е	Отрицат-е	Положит-е	Отрицат-е
Кол-во проб	65	35	63	37
Всего	100		100	

Таблица 2

Показатели оптической плотности (ОП) в ИФА сывороток крови от инфицированных ВЛКРС коров СПК «Колос» Бавлинского района РТ

№ п/п	Иммуноферментный анализ с использованием	
	Исследуемого антигена	Коммерческого набора
1	1,923	1,927
2	1,415	1,397
3	2,323	1,927
4	1,312	1,315
5	1,514	1,522
6	1,317	1,310
7	2,172	1,835
8	1,651	1,473
9	1,427	1,432
10	1,245	1,260
Полож. контроль	1,873	2,108
Отрицат. контроль	0,189	0,187

Из приведенных в таблице данных особый интерес представляют результаты ОП проб №№ 3, 7 и 8, которые у этих проб гораздо выше с исследуемым антигеном. Причем, показатели ОП положительной контрольной сыворотки у данного антигена ниже чем у коммерческого набора. Данный факт можно объяснить тем, что в тест-системах для диагностики лейкоза крупного рогатого скота в основном используется белки оболочки вируса – gp51. Положительные контрольные сыворотки, соответственно получены против этого антигена.

Заключение. В сыворотке крови, в циркулирующих иммунных комплексах инфицированных ВЛКРС коров присутствуют различные белковые фракции вирионов. Разработанный способ позволяет их экстрагировать и использовать в качестве антигена в иммунохимических реакциях для диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Выделенный антиген по специфичности не уступает антигену gp51 применяемому в коммерческих наборах для ИФА, а по чувствительности даже превосходит.

Полученный антиген является комплексным, содержащим различные белковые фракции вируса лейкоза. Следовательно, из-за того, что спектр свободно циркулирующих в крови

антител меняется с развитием инфекционного процесса, полученный антиген способствует более полному обнаружению антител к возбудителю и повышению эффективности диагностических мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота.

Список литературы

1. Сюрин В.Н. Вирус лейкоза крупного рогатого скота / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина – М.: MBA, 1998.
2. Хазипов Н.З. Репродукция вируса лейкоза крупного рогатого скота и иммунный ответ на неё / Н.З. Хазипов, Р.П. Тюрикова // Ученые записки КТГАВМ. – Казань, 2008. – Т. 192. – С. 152–160.
3. Anonymous (2012): OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th Edition, 2012: Enzootic bovine leukosis, Chapter 2.4.11. www.oie.int.
4. Florins A, Gillet N, Asquith B et al (2007). Cell dynamics and immune response to BLV infection: a unifying model. Front BIOSCI 1(12):129-139.
5. Gillet N, Florins A, Boxus M, Burteau C et al (2007). Mechanism of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in humans. Retrovirology 4:18-49.
6. Ungar-Waron H. Circulating immune complexes in bovine leukemia virus (BLV)-infected cattle/ H.Ungar-Waron, J. Brenner, R.Paz, Z.Trainin// Vet.Immunol.Immunopathol. 1992 Oct; 34 (1-2): 173-9; 5.
7. Terukazu Odawara, Misao Onuma, Hiroyasu Yochikawa et.al. Circulating Immune Complexes Levels in Cows with Enzootic Bovine Leukemia // Jpn. J. Vet.Sci., 1987. – v. 49. – P. 657–661.

Медицинские науки

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ ДИАГНОЗ КОЖНОГО ЗУДА В ПРАКТИКЕ ТЕРАПЕВТА

¹Багишева Н.В., ¹Трухан Д.И.,
¹Гришечкина И.А., ²Бусс Н.Н., ³Федотова О.И.
¹Омский государственный медицинский
университет, Омск, e-mail: dmitry_trukhan@mail.ru;
²Городская клиническая больница № 1, Омск;
³Областной кожно-венерологический диспансер, Омск

Кожный зуд (pruritus) – особое неприятное субъективное ощущение, вызывающее потреб-

ность почесаться, является частым симптомом локального (дерматологического) или общего (системного) заболевания. Кожный зуд может быть ограниченным (локализованным) или диффузным (генерализованным) [1]. Локализованный кожный зуд – распространенный симптом кожных заболеваний, который наряду с косметическими дефектами является одним из самых частых поводов для обращения к дерматологу. Изменения кожи в области высыпаний сопровождаются кожным зудом при atopическом дерматите, экземе, крапивнице, микозах,