УДК 619:615.038
DOI 10.29326/2304-196X-2018-2-25-57-60

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ВЕТОМ 21.77»

НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ МЫШЕЙ

Э. Р. Рафикова
Аспирант, ФГБОУ ВО «Новосибирский ГАУ», г. Новосибирск, Россия, *e-mail: pchelka_leta@mail.ru*

РЕЗЮМЕ

Известно, что хищные грибы-гифомицеты играют важную роль в системе профилактических мероприятий при гельминтозах. Отмечено, что сведения о свойствах и влиянии на организм животных соединений, содержащихся в хищных грибах, немногочисленны. Представлены результаты исследования по определению влияния нового микробиологического препарата «Ветом 21.77» на основе *Duddingtonia flagrans* на биохимический профиль сыворотки крови лабораторных мышей. Препарат назначали животным в дозах 2, 5, 50 и 300 мкл/кг массы. Контроль изучаемых показателей производили до исследования, через 2 и 7 сут после ежедневного применения препарата. Во всех опытных группах показатели сохранялись в пределах физиологической нормы, как и в контрольной, где препарат не применяли. Результаты исследования свидетельствуют о безвредности микробиологического препарата. У мышей, получающих максимальную дозу препарата, регистрировали достоверное увеличение содержания общего белка и альбумина в сравнении с аналоговыми из контроля.

Ключевые слова: «Ветом», биохимический профиль, мыши, *Duddingtonia flagrans*.

UDC 619:615.038

EFFECT OF "VETOM 21.77" PREPARATION

ON SERUM BIOCHEMICAL PATTERN IN MICE

E. R. Rafikova
Post-Graduate Student, FGBEE "Novosibirsk Agricultural University", Novosibirsk, Russia, *e-mail: pchelka_leta@mail.ru*

SUMMARY

It is known that predatory *Hyphomycetes* fungi play an important role in measures taken for helminthic infestation prevention. There is little evidence on properties of compounds contained in predatory fungi and their effect on animals. Results of tests of "Vetom 21.77", new microbiological preparation based on *Duddingtonia flagrans*, for its effect on serum biochemical pattern of laboratory mice are presented. The preparation was administered to the animals at the dose of 2, 5, 50 and 300 μl/kg of body weight. The animals were examined for tested parameters prior and 2 and 7 days after daily administration of the preparation. The parameters remained within the normal physiological limits in all test group as well as in control group not given the preparation. The test results indicated safety of the said microbiological preparation. Significant increase in total protein and albumin contents was recorded in mice given the maximum dose of the preparation as compared with those of control group.

Key words: "Vetom", biochemical pattern, mice, *Duddingtonia flagrans*.

ВВЕДЕНИЕ

Среди естественных регуляторов численности гельминтов можно отдельно рассматривать грибы-гифомицеты, проявляющие хищническую активность по отношению к паразитам. Гифомицеты являются объектом довольно большого количества исследовательских работ, которые продолжают проводиться учеными многих стран. К преимуществам использования таких грибов относят, в частности, их присутствие практически во всех частях мира и во всех климатических зонах [5]. Согласно имеющимся литературным данным, эти гельминтофаги, находясь в микросредах с нематодами, в течение 24 часов формируют ловчие органы [12], которые способны не просто захватывать нематоды, но также адгезировать к ним и таким образом эффективно распространяться по ареалу обитания паразитов [9]. Дополнительное преимущество данных хищников заключается в безопасности для организма хозяина [7].

Одним из наиболее эффективных представителей гифомицетов является хищный гриб *Duddingtonia flagrans* из семейства *Orbiliaceae* [10, 11]. Спектр эффективности этого нематофага, как показывают результаты различных исследований, не ограничивается противопаразитарным действием: к примеру, применение изолята *D. flagrans* совместно с *Saccharomyces cerevisiae*, помимо снижения паразитарной нагрузки, привело к повышению молочной продуктивности коров [6].

У всех видов *Arthrobotrys* до 80% липидного состава представлено триглицеридами, в том числе пальмитиновой, олеиновой и линолевой кислотами; до 12% липидов в грибах этого рода составляют стеролы, необходимые, вероятно, для образования латексоподобных вязких и клейких веществ, концентрирующихся на поверхности ловчих колец «хищного» мицелия [1]. Данное обстоятельство дает основания предполагать возможные изменения в биохимических показателях белково-липидного обмена мышей в результате скармливания им спорово-мицелиальной биомассы *D. flagrans*.

Выявленное Т. В. Тепляковой посредством рентгеновского микроанализа повышенное содержание в «хищном» мицелии кальция (участвующего, согласно гипотезе автора, в процессах клеточных сокращений, протекающих при актах хищничества грибов), а также калия и фосфора [4] вызвало интерес и сподвигло включить ряд электролитов в список изучаемых показателей.

Вообще же, ввиду немногочисленности имеющихся в научной литературе сведений о свойствах содержа-

Таблица 1
Биохимические показатели крови лабораторных животных до исследования ($n = 5, x \pm \mu$)

Показатель	Результат исследования	Норма
Общий белок (г/л)	48,60 ± 0,24	43–64
Альбумин (г/л)	22,93 ± 0,18	20–47
Мочевина (ммоль/л)	5,04 ± 0,08	4,3–10,0
Билирубин общий (мг/дл)	0,21 ± 0,03	0,1–0,9
АЛТ (МЕ/л)	49,20 ± 0,66	26–120
АСТ (МЕ/л)	120,0 ± 1,3	69–191
Глюкоза (ммоль/л)	7,98 ± 0,09	5,9–15,4
Фосфор (ммоль/л)	2,20 ± 0,03	2–4
Кальций (ммоль/л)	2,48 ± 0,03	2,3–3,0
Калий (ммоль/л)	6,98 ± 0,05	5–9
Натрий (ммоль/л)	152,06 ± 1,30	147–167
Холестерин общий (ммоль/л)	3,31 ± 0,03	1,6–4,5
Креатинин (ммоль/л)	0,05 ± 0	0,04–0,07

щихся в хищных грибах соединений (таких как сесквитерпены и фосфолипазы) применительно к организму животных, в настоящем исследовании было решено использовать как можно более широкий спектр биохимических показателей.

Цель работы заключалась в исследовании влияния микробиологического препарата «Ветом 21.77», содержащего спорово-мицелиальную биомассу *D. flagrans*, на биохимический профиль сыворотки крови лабораторных мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-экспериментальное исследование проводили на базе Научно-исследовательской ветеринарной лаборатории агротехнопарка при Государственном университете им. Шакарима (г. Семей, Казахстан).

Опытный образец – микробиологический препарат «Ветом 21.77», представляющий собой лиофилизированный изолят апатогенного нематофагового гриба *D. flagrans* на сухих иммобилизующих носителях, обладающих пребиотическими, сорбирующими и антитоксическими свойствами.

Исследование биохимических показателей сыворотки крови осуществляли на 105 нелинейных лабораторных мышах весом 19,8 ± 0,3 г. Для проведения эксперимента были сформированы 5 групп животных – контрольная и четыре опытные – по 20 голов в каждой. Также дополнительно использовали 5 мышей для биохимического анализа, который провели до начала исследования. В опытных группах препарат применяли в дозах 2, 5, 50 и 300 мкл/кг массы. Животные контрольной группы препарат не получали. Контроль изучаемых показателей производили до исследования, а затем через 2 и 7 сут после ежесуточного применения препарата в вышеуказанных дозах животными опытных групп.

Ежедневно проводили клинический осмотр мышей, фиксируя в индивидуальных картах данные о внешнем виде каждого животного, поведении, потреблении корма, изменении массы тела.

Таблица 2
Биохимические показатели крови лабораторных животных через 2 суток от начала исследования ($n = 50, x \pm \mu$)

Показатель	Результат исследования					Норма
	контрольная	опытная 1 (2 мкл/кг)	опытная 2 (5 мкл/кг)	опытная 3 (50 мкл/кг)	опытная 4 (300 мкл/кг)	
Общий белок (г/л)	48,80 ± 0,2	48,80 ± 0,37	48,80 ± 0,37	49,20 ± 0,37	49,20 ± 0,37	43–64
Альбумин (г/л)	23,16 ± 0,11	23,18 ± 0,11	23,17 ± 0,13	23,29 ± 0,07	23,43 ± 0,09	20–47
Мочевина (ммоль/л)	5,09 ± 0,07	5,12 ± 0,05	5,10 ± 0,08	5,11 ± 0,05	5,12 ± 0,07	4,3–10
Билирубин общий (мг/дл)	0,22 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,21 ±0,02	0,1–0,9
АЛТ (МЕ/л)	49,60 ± 0,51	49,60 ± 0,68	49,80 ± 0,49	49,60 ± 0,75	49,80 ± 0,58	26–120
АСТ (МЕ/л)	120,80 ± 1,43	121,2 ± 1,5	121,60 ± 1,81	122,00 ± 1,87	122,60 ± 1,44	69–191
Глюкоза (ммоль/л)	8,02 ± 0,05	8,00 ± 0,05	7,97 ± 0,06	7,99 ± 0,09	7,98 ± 0,07	5,9–15,4
Фосфор (ммоль/л)	2,21 ± 0,02	2,19 ± 0,03	2,21 ± 0,04	2,20 ± 0,04	2,21 ± 0,03	2–4
Кальций (ммоль/л)	2,50 ± 0,04	2,47 ± 0,06	2,49 ± 0,03	2,52 ± 0,03	2,51 ± 0,05	2,3–3,0
Калий (ммоль/л)	7,00 ± 0,06	6,99 ± 0,03	7,00 ± 0,05	7,00 ± 0,04	7,02 ± 0,04	5–9
Натрий (ммоль/л)	151,67 ± 0,71	151,45 ± 0,84	152,48 ± 1,01	151,46 ± 0,97	152,38 ± 0,75	147–167
Холестерин общий (ммоль/л)	3,34 ± 0,03	3,33 ± 0,04	3,30 ± 0,04	3,31 ± 0,05	3,32 ± 0,03	1,6–4,5
Креатинин (ммоль/л)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04–0,07

Таблица 3
Биохимические показатели крови лабораторных животных через 7 суток от начала исследования
($n = 50, x \pm \mu$)

Показатель	Результат исследования					Норма
	контрольная	опытная 1 (2 мкл/кг)	опытная 2 (5 мкл/кг)	опытная 3 (50 мкл/кг)	опытная 4 (300 мкл/кг)	
Общий белок (г/л)	49,2 ± 0,2	49,4 ± 0,24	49,40 ± 0,24	50,20 ± 0,58	50,60 ± 0,51*	43–64
Альбумин (г/л)	23,5 ± 0,1	23,54 ± 0,15	23,64 ± 0,10	23,90 ± 0,17	23,95 ± 0,10*	20–47
Мочевина (ммоль/л)	5,16 ± 0,11	5,18 ± 0,07	5,19 ± 0,06	5,22 ± 0,08	5,30 ± 0,09	4,3–10
Билирубин общий (мг/дл)	0,21 ± 0,02	0,22 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,1–0,9
АЛТ (МЕ/л)	50,20 ± 0,37	50,60 ± 0,51	50,60 ± 0,51	51,00 ± 0,45	51,00 ± 0,55	26–120
АСТ (МЕ/л)	123,00 ± 1,26	123,20 ± 1,07	123,60 ± 1,25	124,40 ± 1,21	124,60 ± 1,17	69–191
Глюкоза (ммоль/л)	8,00 ± 0,11	7,99 ± 0,08	7,97 ± 0,07	7,88 ± 0,07	7,82 ± 0,08	5,9–15,4
Фосфор (ммоль/л)	2,21 ± 0,04	2,20 ± 0,04	2,24 ± 0,03	2,22 ± 0,03	2,24 ± 0,05	2–4
Кальций (ммоль/л)	2,52 ± 0,03	2,53 ± 0,03	2,55 ± 0,03	2,57 ± 0,03	2,58 ± 0,03	2,3–3,0
Калий (ммоль/л)	7,06 ± 0,05	7,01 ± 0,03	7,04 ± 0,04	7,10 ± 0,07	7,08 ± 0,05	5–9
Натрий (ммоль/л)	151,74 ± 0,72	151,67 ± 1,18	152,30 ± 1,33	151,83 ± 0,87	152,27 ± 0,92	147–167
Холестерин общий (ммоль/л)	3,31 ± 0,03	3,29 ± 0,04	3,30 ± 0,05	3,25 ± 0,04	3,23 ± 0,07	1,6–4,5
Креатинин (ммоль/л)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04–0,07

* $p < 0,05$.

Взятие крови для исследования проводили в одно и то же время натощак общеизвестными методами [2, 8]. При проведении эксперимента использовали технику взятия крови непосредственно из сердечной мышцы, предварительно умерщвляя животных гуманным способом, по 5 мышей до начала исследования и по 10 мышей из каждой группы через 2 и 7 сут.

Биохимические исследования сыворотки крови проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Minitecno (I.S.E. S.r.l., Италия) и полуавтоматическом биохимическом анализаторе Stat Fax 3300 (Awareness Technology, США). Исследовали следующие биохимические показатели сыворотки крови: общий белок (г/л), альбумин (г/л), мочевину (ммоль/л), билирубин общий (мг/дл), АЛТ (МЕ/л), АСТ (МЕ/л), глюкозу (ммоль/л), фосфор (ммоль/л), кальций (ммоль/л), калий (ммоль/л), натрий (ммоль/л), общий холестерин (ммоль/л), креатинин (ммоль/л).

Полученные экспериментальные данные были обработаны с использованием программного обеспечения StatsDirect 3.1.15 (StatsDirect Ltd, UK). Сравнение выборок проводили с помощью одностороннего *U*-критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении эксперимента зарегистрирована 100%-я сохранность подопытных животных. Физиологическое состояние мышей контрольной и опытных групп было в пределах нормы.

Результаты основных биохимических показателей крови мышей, полученные до начала научно-экспериментального исследования, представлены в таблице 1. Установлено, что по всем показателям значения были в пределах допустимых физиологических норм, принятых для лабораторных мышей.

Значения биохимических показателей сыворотки крови животных опытных групп через 2 сут после применения препарата также оставались в пределах физиологической нормы. Уровень статистической значимости различий между значениями интактной контрольной и опытных групп животных достигнут не был (табл. 2).

На 7-е сутки эксперимента значения общего белка в сыворотке крови животных 1-й и 2-й опытных групп на 0,4% превышали аналоговые в контроле; в 3-й опытной группе показатель был выше на 2%, а в 4-й, где препарат назначали в дозе 300 мкл/кг, – на 2,8% ($p < 0,05$), превзойдя контрольную величину в статистически значимой степени (табл. 3).

Увеличение данного показателя может свидетельствовать об интенсификации белкового обмена у исследуемых мышей с преимущественным преобладанием анаболических процессов в организме животных [3].

Альбуминовая фракция также значительно превышала контрольное значение в 4-й опытной группе на 1,9% ($p < 0,05$). В 1-й опытной группе показатель был выше на 0,2, во 2-й – 0,4, в 3-й – 1,7%,

На данном этапе исследования регистрировали последовательное увеличение содержания мочевины в сыворотке крови мышей всех опытных групп на 0,4–2,7% относительно контроля, в зависимости от уровня дозы применяемого препарата. Известно, что моче-

вина и креатинин являются продуктами метаболизма аминокислот. Сывороточные концентрации данных метаболитов коррелируют с состоянием мышечной ткани [13].

В отношении электролитов наблюдалась относительно равномерная стабильная картина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования установлено, что при применении препарата «Ветом 21.77» в дозах 2, 5, 50 и 300 мкл/кг массы биохимические показатели сыворотки крови мышей оставались в пределах физиологической нормы, как и в контрольной группе, где препарат не применяли. По окончании исследования у мышей 4-й опытной группы регистрировали статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение концентраций общего белка и альбумина в сыворотке крови. Данные биохимические показатели были выше по сравнению с аналогами контрольной группы. Клиническая значимость подобных результатов может быть подвергнута сомнению, однако представляется возможным утверждать о наличии тенденции к положительным сдвигам в указанных показателях при применении соответствующих доз микробиологического препарата.

Показатели сыворотки крови у всех подопытных животных изменялись по одинаковой закономерности в пределах физиологической нормы соответственно физиологическому статусу. На протяжении научно-экспериментального исследования побочных действий, воспалительных и аллергических реакций, связанных с применением препарата, не выявлено.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю, заслуженному деятелю науки Новосибирской области, заслуженному работнику высшей школы РФ, заведующему кафедрой фармакологии и общей патологии (НГАУ) доктору ветеринарных наук, профессору Ноздрину Григорию Антоновичу.

Автор благодарит руководителя центра ветеринарии агротехнопарка Государственного университета им. Шакарима (г. Семей, Казахстан) доцента Байгазанова Абдрахмана Нурмухамбетовича за предоставление материально-технической базы, а также кандидата ветеринарных наук Боярченко Елену Константиновну.

Отдельную благодарность выражает педагогу высшей квалификационной категории Рафиковой Рашиде Шаукатовне.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беккер З. Э. Физиология и биохимия грибов. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. – 230 с.

2. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник / под ред. проф. И. П. Кондрахина. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.

3. Середа Т. И., Дерхо М. А. Оценка роли аминотрансфераз в формировании продуктивности у кур-несушек // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 2. – С. 72–77.

4. Теплякова Т. В. Биоэкологические аспекты изучения и использования хищных грибов-гифомицетов. – Новосибирск, 1999. – 252 с.

5. Теплякова Т. В. Грибы выходят на охоту // Наука из первых рук. – 2012. – № 5 (47). – С. 44–53.

6. Ahmad R. Z., Gholib D. The treatment of *Duddingtonia flagrans* and *Saccharomyces cerevisiae* increase milk production and decrease worm population in cow // Jurnal Veteriner. – 2014. – Vol. 15, No. 2. – P. 221–229.

7. Biology of conidial fungi / ed. G. T. Cole. – Elsevier, 2012. – 680 p.

8. Danneman P. J., Suckow M. A., Brayton C. The Laboratory Mouse. – 2nd ed. – Boca Raton: CRC Press, 2012. – P. 164–165.

9. Evolution of nematode-trapping cells of predatory fungi of the Orbiliaceae based on evidence from rRNA-encoding DNA and multiprotein sequences / Y. Yang, E. Yang, Z. An, X. Liu // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2007. – Vol. 104, No. 20. – P. 8379–8384.

10. *In vitro* nematophagous activity of predatory fungi on infective nematodes larval stage of strongyloidae family / M. Zarrin, M. Rahdar, F. Poormohamadi, A. Rezaei-Matehkolaei // J. Med. Sci. – 2017. – Vol. 5, No. 3. – P. 281–284.

11. *In vitro, in vivo*, and interaction studies of nematophagous fungus *Arthrobotrys thaumasia (Monacrosporium thaumasium)* with the larvae of trichostrongylides of sheep / B. B. Wang, K.-Z. Cai, Q. Xu [et al.] // J. Parasitol. – 2017. – Vol. 103, No. 6. – P. 692–698.

12. Poinar G. O. Diseases of Nematodes. – Boca Raton: CRC Press, 2017. – Vol. 1. – 159 p.

13. Respiratory Care: Principles and Practice / D. R. Hess, N. R. MacIntyre, S. C. Mishoe [et al.]. – Jones & Bartlett Publishers, 2015. – 1520 p.

REFERNCES

1. Becker Z. E. Physiology and biochemistry of fungi [Fiziologija i biohimija gribov]. M.: Moscow University Press, 1988 (in Russian).

2. Methods for veterinary clinical laboratory diagnosis [Metody veterinarnoj klinicheskoj laboratornoj diagnostiki: spravochnik]. ed. by Prof. I. P. Kondrakhina. M.: KolosS, 2004 (in Russian).

3. Sereda T. I., Derho M. A. The role of aminotransferase activity in hen productivity [Ocenka roli aminotransferaz v formirovanii produktivnosti u kur-nesushek]. *Sel'skohozyajstvennaja biologija*. 2014; 2: 72–77 (in Russian).

4. Teplyakova T. V. Bio-ecological aspects of predatory *Hyphomycetes* fungi examination and use [Bioekologicheskie aspekty izucheniya i ispol'zovaniya hishchnyh gribov-gifomicetov]. Novosibirsk, 1999 (in Russian).

5. Teplyakova T. V. Fungi are on a hunt [Griby vyhodyat na ohotu]. *Nauka iz pervyh ruk*. 2012; 5 (47): 44–53 (in Russian).

6. Ahmad R. Z., Gholib D. The treatment with *Duddingtonia flagrans* and *Saccharomyces cerevisiae* increase milk production and decrease worm population in cow. *Jurnal Veteriner*. 2014; 15 (2): 221–229.

7. Biology of conidial fungi. ed. G. T. Cole. Elsevier; 2012.

8. Danneman P. J., Suckow M. A., Brayton C. The Laboratory Mouse. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2012: 164–165.

9. Yang Y., Yang E., An Z., Liu X. Evolution of nematode-trapping cells of predatory fungi of the Orbiliaceae based on evidence from rRNA-encoding DNA and multiprotein sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104 (20): 8379–8384.

10. Zarrin M., Rahdar M., Poormohamadi F., Rezaei-Matehkolaei A. *In vitro* nematophagous activity of predatory fungi on infective nematodes larval stage of strongyloidae family. *J. Med. Sci*. 2017; 5 (3): 281–284.

11. Wang B. B., Cai K.-Z., Xu Q. et al. *In vitro*, *in vivo*, and interaction studies of nematophagous fungus *Arthrobotrys thaumasia* (*Monacrosporium thaumasium*) with the larvae of trichostrongylides of sheep. *J. Parasitol*. 2017; 103 (6): 692–698.

12. Poinar G. O. Diseases of Nematodes. Boca Raton: CRC Press, 2017; 1.

13. Hess D. R., MacIntyre N. R., Mishoe S. C. et al. Respiratory Care: Principles and Practice. Jones & Bartlett Publishers, 2015.

Поступила 26.03.18
Принята в печать 07.05.18