

**"ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ ПТИЦЕВОДСТВА" — филиал
ФГБНУ ФНЦ "ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
ПТИЦЕВОДСТВА"**

На правах рукописи

Святковский Александр Александрович

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ МИТОФЕНА НА
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОРГАНИЗМА КУР-НЕСУШЕК, ЦЫПЛЯТ-
БРОЙЛЕРОВ И ИХ ПРОДУКТИВНОСТЬ**

06.02.03 - ветеринарная фармакология с токсикологией

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата

ветеринарных наук

Научный руководитель:
Доктор биологических наук, профессор
Андреева Надежда Лукояновна

Санкт Петербург 2017

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В РАБОТЕ.....	45
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	54
3.1 Влияние митофена на рост микробной клетки (на примере симбионтной микрофлоры).....	54
3.2 Влияние митофена на клетки тканевой культуры (фибробласты)	57
3.3 Влияние митофена на интенсивность привесов и антиоксидантный статус цыплят-бройлеров	60
3.4 Влияние митофена и мексидола (производное янтарной кислоты) на резистентность и продуктивность цыплят-бройлеров.....	66
3.5 Влияние митофена и янтарной кислоты на резистентность и продуктивность цыплят-бройлеров.....	72
3.6 Влияние митофена на неспецифическую резистентность и привесы цыплят при вакцинации против МПВИ и НБ	77
3.7 Влияние митофена на цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни.....	87
3.8 Влияние митофена, янтарной кислоты и пробиотика на здоровье и яичную продуктивность кур-несушек	97
3.9 Исследование качества яиц перед и после длительного хранения	102
3.10 Экономическая эффективность применения митофена в птицеводстве	107
Заключение.....	108
Выводы	109
Список сокращений	111
Список опубликованных работ по теме диссертации	112
Список литературы.....	114

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Одним из ведущих направлений современной ветеринарии в сельском хозяйстве является получение высококачественного продукта животного происхождения пищевой и легкой промышленности, что является главной частью Доктрины продовольственной безопасности нашей страны.

В ней указывается, что для обеспечения продовольственной независимости страны требуется устойчивое развитие отечественного производства, в частности, ускоренное развитие сферы продовольствия и сырья, обеспечение безопасности пищевых продуктов. Это возможно осуществлять лишь при постоянном развитии фундаментальных и прикладных научных исследований по медико-биологической оценке безопасности новых источников пищи и ингредиентов; внедрении инновационных технологий, включающих био- и нанотехнологии, технологии производства пищевых продуктов и продовольственного сырья; наращивании производства новых обогащенных, диетических и функциональных пищевых продуктов (Указ Президента РФ от 30.01.2010 № 120).

Существует понимание, что реализация данных задач возможна при значительной интенсификации сельскохозяйственного производства, в частности, птицеводства. В связи с этим, огромное значение приобрело развитие биологической науки, главным образом её разделов, изучающих обмен и регуляцию веществ в организме животных и птицы (Лондон Е.С.,1938; Фисинин В.И.,2009; Шмидт-Ниельсен К.,1982).

Стало общепринятым понимание того, что интенсивное ведение сельскохозяйственного производства приводит к более или менее выраженному негативному давлению производственных процессов на организм животных. На что, в свою очередь, организм животных отвечает естественной реакцией, которую называют стрессом или адаптационным синдромом. Такая приспособительная (адаптационная) реакция необходима для обеспечения

согласованного функционирования всех физиологических систем или активизации защитных сил организма (Горизонтов П.Д.,1981; Савченко А.А., 2011). Она носит относительно кратковременный характер и может привести к истощению организма (дистресс) и потере продуктивности (Бессарабов Б.Ф.,1983; Болотников И.А.,1983; Голиков А.М.,1985; Плященко С.И.,1981; Селье Г.,1979; Evans A. J.,1977; Griffin H.,1998).

В животноводстве и птицеводстве от стресса особенно страдает молодняк, который имеет недостаточно совершенную систему защиты организма, резистентность (Артюх Е.И.,1967; Болотников И.А.,1983; Ноздрин Г.А., 2001). Поэтому воздействие стрессовых факторов помимо прямого ущерба, выражающегося в потере продуктивности, может приносить дополнительный ущерб от возникновения функциональных расстройств и заболеваний различного (заразного и незаразного) генеза (Бакулин В.А., 2006; Бирман Б.Я., 2004; Болотников И.А.,1982,1983).

Таким образом, в связи с интенсивным повышением эффективности технологических процессов производства продукции промышленных животноводства и птицеводства наряду с достижением высоких показателей продуктивности, возрастает и физиологическая нагрузка на организм животных и птицы, в частности, за счёт многочисленных воздействий отрицательных факторов техногенной среды. Адаптационные процессы в организме не справляются, что может приводить к возникновению патологических состояний и, как следствие потере продуктивности (Виноходов В.О.,2002; Голиков А.М., 1985; Плященко С.И.,1979,1981,1983; Селье Г.,1979; Selye H.,1936,1956).

В наибольшей степени негативное влияние интенсификации производства проявляется в промышленном птицеводстве, т.к. именно в этой отрасли удаётся получать наибольшее количество мясной и яичной продукции за минимально короткие сроки использования птицы и с наивысшей рентабельностью. При этом отмечается снижение способности организма птицы промышленных кроссов противостоять неблагоприятному воздействию факторов внешней среды, в частности, снижение показателей резистентности птицы (Артюх Е.И.,1967;

Бессарабов Б.Ф.,1983; Гаркави Л.Х.,1990,1998; Мечников И.И.,1966; Фисинин В.И.,2009).

Уровень естественной резистентности определяется преимущественно неспецифическими защитными факторами организма, которые связаны с деятельностью гормональной, а также центральной и вегетативной нервной системами, с функцией регуляции метаболизма на клеточном и гуморальном уровне (Болотников И.А.,1980,1982,1983; Кассиль Г.Н.,1983).

Повышение защитных сил организма животных, сопротивляемость агрессивным факторам внешней среды, повышение функциональной деятельности различных систем с целью их лучшего использования - является общебиологической проблемой (Кириллов О.И.,1966,1973; Фисинин В.И.,2009).

Неспецифическую резистентность организма животных можно укреплять и стимулировать, за счет обеспечения их биологически полноценным (сбалансированным) кормлением и созданием оптимальных (физиологически комфортных) условий содержания (Коваленко Я.Р.,1966; Меерсон Ф.З.,1981; Петрухин И.В.,1972; Хеннинг А.П.,1976; Aschkenazy A.,1975; Beisel W.R.,1977; Bhargava W.J.,1970; Kenney M.A.,1970; Tsiagbe V. K.,1982; Waldschmidt T.,1985). Нарушение же данных условий приводит к нагрузкам на организм, приводящим к патологии. Это явление получило обобщенное название – технологический стресс. Проблема негативных последствий стресса у сельскохозяйственных животных имеет большое значение, так как потеря продуктивности, ухудшение качества продукции и повышение затрат на ее производство наносят значительный экономический ущерб (Соколов В.Д.,1989,1990). В частности, комплектование групп птиц в промышленных условиях связано с отловом, взвешиваниями, перемещениями, применением ряда лекарственных средств и вакцин, что оказывает огромную нагрузку на живой организм (Кассиль Г.Н.,1983; Ковальчикова М.,1978).

Профилактику негативных последствий стрессовых реакций у сельскохозяйственных животных проводят, применяя вещества, обладающие иммуностимулирующей активностью, адаптогенными и стресс-протекторными

свойствами. Они повышают устойчивость к неблагоприятным факторам, усиливают иммунный ответ при вакцинации и активизируют защитные силы организма (Брехман И.И.,1977; Евстратова А.М.,1979; Кириллов О.И.,1973; Плященко С.И.,1983; Шитый А.Г.,1981; Rueokert К.Н., 1975). Соответствующие фармакологические средства способствуют лучшей мобилизации защитных сил организма для противодействия негативным факторам (Лазарев Н.В.,1958; Ляпустина Т.А.,1980; Марина Т.Ф.,1964; Плященко С.И.,1979; Сухинин А.А.,1989; Триполитова А.А.,1968; Tewes U. 1996). В последнее время, наряду с вышеуказанными препаратами, стали уделять внимание и антиоксидантным препаратам (Воронина Т.А.,2009; Мельниченко В.И.,2006; Суколинский В.Н.,1990). Это связано с тем, что антиоксидантные препараты обладают широким спектром адаптогенных эффектов, а также косвенным неспецифическим противоинфекционным (иммуномодулирующим) действием. Большинство антиоксидантных препаратов в терапевтических дозах не оказывают отрицательного влияния на организм птицы. Более того, известно, что их применение способствует увеличению прироста живой массы цыплят (Андреева Н.Л.,1992,1995; Святковский А.В.,2010,2014; Ясюнас В.,1985). Ряд исследователей сообщает о применении антиоксидантов для стимуляции иммунной системы птиц (Болотников И.А.,1980; Суколинский В.Н.,1990; Утешев Д.Б.,1998). Поэтому изучение возможностей увеличения прироста живой массы, улучшения адаптации птицы к окружающей среде с повышением сохранности поголовья, а также создания более напряженного и продолжительного поствакцинального иммунитета имеет важное научно-практическое значение.

В процессе жизнедеятельности организма может образовываться большое количество разнообразных химически активных (легко вступающих в реакции окисления) кислородсодержащих форм, получивших обобщенное название свободные радикалы (Медведев Ю.В.,2000). За их счёт в процессах метаболизма в мембранах клеток осуществляется перекисное окисление липидов, которое существенно усиливается при любых негативных воздействиях на организм

(Бышевский А.Ш.,1994). Защитную функцию при этом выполняет антиоксидантная система, состоящая из ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза) и инактиваторов свободных радикалов неферментной природы, например, таких как витамины Е, А и С. Известно также и о синергизме ряда неферментных антиоксидантов, например, витаминов С и Е. Антиоксидантными свойствами обладают также серосодержащие соединения: метионин и натрия тиосульфат (Лазарева Д.Н.,1985).

Если образование свободных радикалов происходит слишком интенсивно, организм не успевает нейтрализовывать их и происходит нарушение равновесия - так называемый "окислительный стресс". Из-за избытка свободных радикалов и их высокой биохимической активности усиливаются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), что может приводить к нарушениям структуры молекулы ДНК, генным мутациям и, в конечном итоге, гибели клетки (Святковский А.В.,2010). Наиболее значимой мишенью свободных радикалов в организме являются фосфолипиды, преимущественно, клеточных и митохондриальных мембран. При любых неблагоприятных условиях, приводящих к патологии (повышенный радиационный и электромагнитный фоны, загрязнение окружающей среды, ряд лекарственных средств, воздействие возбудителей инфекционной патологии и паразитов, микотоксинов, стрессовые ситуации и т.д.), происходит избыточное накопление свободных кислородсодержащих радикалов, что приводит к разрушению внешних и внутренних мембран с последующим нарушением ионного баланса клеток организма, высвобождением протеинов в межклеточное пространство и началом воспалительного процесса (Surai P.F.,2005).

К настоящему времени арсенал средств для коррекции подобных состояний насчитывает уже более десятка природных и синтетических соединений, большая часть которых предназначена для связывания и обезвреживания продуктов перекисного окисления. Среди них хорошо известны аскорбиновая кислота, токоферолы, каротиноиды, убихинон, флавоноиды. Некоторые из этих соединений обладают также и антигипоксантной

активностью: убихинон, флавоноиды. Сочетанным эффектом обладают препараты полифенольной структуры, например, натриевая соль [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] (митофен). Данный препарат относится к синтетическим производным полифенолов и является структурным (химическим) аналогом коэнзима Q_{10} – естественного метаболита клеток организма животных и птиц. В экспериментальных условиях на биологических моделях отмечена способность полифенолов модифицировать дыхательные цепи в митохондриях. На клеточном и организменном уровнях у них выявлены антигипоксикантные и антиоксидантные свойства, характерные для природных хинонов, только в ряде случаев более отчетливые (Медведев Ю.В., 2000).

Митофен обладает комплексным действием, проявляет антигипоксическую, антиоксидантную, антистрессовую активность за счёт уменьшения воздействия свободнорадикального окисления клеточных структур живого организма. Под его воздействием повышается коэффициент аэробного (митохондриального) окисления клеток, что способствует возрастанию усвоения энергии и/или более экономичного её расходования организмом. В виду весьма низкой токсичности (4-й класс) и широкого спектра действия он может оказаться весьма перспективным для использования в народном хозяйстве и, в частности, в птицеводстве (Святковский, А.В., 2011, 2012). Было установлено, что митофен может быть использован в качестве кормовой добавки в промышленном птицеводстве цыплятам яичного направления и бройлерам как высокоэффективный антиоксидант, повышающий продуктивность, кроме того, в ряде опытов был обнаружен защитный эффект митофена при заболевании, в частности, инфекционным гидроперикардитом (Рябцев П.С., 2013), что проявлялось в снижении тяжести клинической картины и в уменьшении падежа больной птицы. Соответственно, данные свойства митофена могут быть полезны и востребованы в промышленном птицеводстве. В тоже время остаётся актуальным изучение влияния митофена на неспецифическую резистентность у птиц.

Степень разработанности проблемы. В настоящее время актуально изучение влияния различных условий окружающей среды, кормления, фармакологических средств на иммунитет животных и в частности на неспецифическую резистентность. Изучение отклика иммунной системы живого организма на введение различных фармакологических веществ может осуществляться множеством разной степени сложности методов, позволяющих получать достоверные и объективные данные. Существует большое количество доступных и информативных показателей неспецифической резистентности животных, которые дают возможность оценивать и прогнозировать состояние их здоровья и эффективность лечебно-профилактических мероприятий (Андреева Н.Л.,1997; Болотников И.А.,1993; Борздов А. А.,2008; Виноходова М.В.,2015; Гущина Э.В.,1990; Деева А.В.,2005; Пигаревский В. Е.,1975; Семина А.Н.,2013; Смирнов П.Н.,2008; Сосновская Т.А.,1999; Федотов В.П.,2009; Чеботкевич В.Н., 1998).

Изучение влияния митофена на неспецифическую резистентность организма птиц стало представлять научный интерес в результате получения данных по исследованию фармакотоксикологических характеристик его как антиоксиданта (Святковский А.В.,2012,2014,2015).

Цели и задачи исследования. Целью наших исследований явилось – установить эффективность применения митофена в условиях промышленного птицеводства, в частности определить его влияние на резистентность организма кур-несушек, цыплят-бройлеров и их продуктивность.

Для достижения указанной цели, были поставлены следующие задачи:

- исследовать влияние митофена на резистентность организма кур-несушек и цыплят-бройлеров.
- определить влияние митофена на органы иммунитета при вакцинации кур против ИББ, МПВИ, НБ.
- изучить возможность сочетания митофена с другими антиоксидантами (витамин Е, янтарная кислота, мексидол).

- обосновать целесообразность применения митофена цыплятам и курам-несушкам в производственных условиях.

Научная новизна. Впервые показано положительное фармакологическое влияние митофена на резистентность цыплят-бройлеров и кур-несушек, в том числе, при проведении вакцинации (против ИББ, НБ и МПВИ). Определено влияние митофена на продуктивность и некоторые клинические показатели здоровья бройлеров и кур-несушек, а также на показатели качества яичной продукции. Изучена возможность сочетаемости митофена с другими антиоксидантами (витамин Е, янтарная кислота, мексидол).

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенные исследования позволили оценить эффективность воздействия митофена на резистентность организма кур-несушек и цыплят-бройлеров и предложить схему практического применения кормовой добавки, содержащей митофен.

Данные, полученные в эксперименте, указывают на стимулирующее действие митофена на (неспецифическую) резистентность и влияние на формирование специфического (вакцинального) иммунитета организма цыплят при вакцинации против инфекционной бурсальной болезни птиц (болезнь Гамборо).

Результаты исследований имеют высокую теоретическую значимость и практическую ценность. Они были использованы при разработке методических положений по применению кормовой добавки, содержащей митофен. Предложенный комплекс может быть использован для повышения рентабельности промышленного птицеводства, что подтверждено актом производственных испытаний и справкой о практическом внедрении предложенных нами схем препарата.

Методология и методы исследования. Исследования проведены с использованием общих клинических, фармакологических, гематологических, иммунологических и биохимических методов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Стимулирующее действие митофена на неспецифическую резистентность организма цыплят-бройлеров и кур-несушек и влияние препарата на повышение показателей мясной и яичной продуктивности.

2. Эффективность применения митофена для повышения резистентности организма цыплят при проведении вакцинации против ИББ, МПВИ и НБ.

3. Синергетическое действие митофена с янтарной кислотой на неспецифическую резистентность и антиоксидантную активность кур-несушек.

Апробация полученных результатов. Материалы диссертации доложены на: Международной научно-практической конференции «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве» 30-31 октября 2014 г.; международном агропромышленном конгрессе «Перспективы инновационного развития агропромышленного комплекса и сельских территорий» - СПб, 2014 г.; Международной научно-практической конференции для аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития научной и инновационной деятельности молодежи», Государственный аграрный университет Северного Зауралья (г.Тюмень) 2016; IV-ом Международном конгрессе ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», СПб, 2016.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Исследования в рассматриваемой нами области проводятся в соответствии с необходимостью обеспечения получения высококачественного продукта животного происхождения пищевой и легкой промышленности, предусмотренной Доктриной продовольственной безопасности нашей страны [217].

Реализация задач, согласно Доктрины продовольственной безопасности нашей страны, возможна только при значительной интенсификации сельскохозяйственного производства, в частности, птицеводства, что в той или иной степени может привести к более или менее выраженному негативному влиянию производственных процессов на организм животных. Естественно, что такое воздействие вызывает у живых организмов адаптационную (стрессовую) реакцию, без которой невозможно осуществление согласованного функционирования всех физиологических систем организма.

Несмотря на относительно кратковременный характер активизации защитных сил, которая обеспечивается напряжением гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, стресс может привести к истощению организма, снижению резистентности и потере продуктивности животных (дистресс) [23,30,58,153,189,245].

Естественно, что в сельскохозяйственном производстве особенно страдает от стресса молодняк животных, который на ранних сроках жизни имеет недостаточно совершенную систему защиты организма [30,88,91,98,157]. Общеизвестно, что ослабление резистентности организма животных, связанное с недоразвитием или перегрузкой иммунной системы, может приводить к различного рода функциональным расстройствам и заболеваниям заразного и незаразного генеза [58,153,154,157,188,189,190,262,263].

Благодаря тому, что в промышленном птицеводстве удаётся получать наибольшее количество мясной и яичной продукции за минимально короткие

сроки использования птицы, именно в этой отрасли в наибольшей степени проявляется негативное влияние интенсификации производства [222].

Установлено, что технологические стрессы, приводят к снижению способности организма противостоять неблагоприятному воздействию факторов внешней среды, в частности, снижению показателей резистентности птицы [15,21,23,24,55,56,131]. В связи с этим, повышению защитных сил организма животных, улучшению функциональной деятельности различных систем организма, сопротивляемости к стрессам различной этиологии и иным факторам внешней среды, уделяется большое внимание [91,92,157,221].

Резистентность (специфическая, неспецифическая)

В настоящее время в биологии общепринятым является понимание термина резистентность организма (от лат. *resisto* - противодействие, сопротивление) как устойчивость организма к действию различных физических (температура, свет, давление и т.д.), химических (фармакологические средства, пестициды и прочие ксенобиотики) и биологических (микроорганизмы, паразиты и т.п.) факторов, способных вызывать физиологическое напряжение организма, вплоть до перенапряжения и развития патологического состояния. В отличие от понятия иммунитет, резистентность организма охватывает более широкий круг явлений сопротивляемости живого организма. Термин отражает потенциальные адаптационные возможности организма, способного противостоять действию патогенных агентов в конкретных условиях существования.

Общеизвестно, что резистентность многоклеточных организмов изменялась, приспособляясь к их потребностям и состоянию окружающей среды в процессе филогенеза; например, беспозвоночные резистентны к ряду бактериальных токсинов, а у теплокровных отмечается выраженная чувствительность к ним. Таким образом, в процессе эволюции сформировалась многоуровневая система естественной резистентности, связанная с его

видовыми, индивидуальными и конституционными особенностями, т. е. каждый индивидуум обладает природной способностью невосприимчивости к внешним агрессивным факторам, включая возбудителей заразных болезней, а также эндогенные и экзогенные яды [94,122,225].

Свойства и уровень резистентности организма тесно связаны с деятельностью всех органов и систем, что зависит от вида животного, его пола, возраста, конституции, анатомо-физиологических особенностей, уровня организации и развития ретикуло-эндотелиальной и лимфоидной систем. На ранних стадиях онтогенеза наблюдается наибольшая резистентность организма к действию различных потенциально повреждающих («вредных») агентов (этиологических факторов). У взрослых молодого и среднего возраста животных отмечается наиболее выраженная резистентность организма, у пожилых и старых животных она снижается. Снижение резистентности также может наблюдаться у животных, испытывающих интенсивные нагрузки, больных и/или находящихся в неблагоприятных условиях содержания и кормления.

В биологии различают естественную (врождённую, наследуемую) и приобретённую резистентность организма.

Врождённая резистентность организма характеризуется генетической невосприимчивостью, например, человек в отличие от птиц абсолютно резистентен к вирусу инфекционной бурсальной болезни птиц [5]. В тоже время, общеизвестен факт, что существуют определенные условия, при которых возможно преодоление врождённой невосприимчивости, например, куры невосприимчивые к сибирской язве могут заболеть ею, если им на определённое время снизить температуру тела.

Приобретённая резистентность организма обуславливается видовыми или индивидуальными особенностями организма при определенных воздействиях на него, например, при естественной (переболевание) или искусственной (вакцинация) иммунизации против различных возбудителей инфекционных болезней. Уровень (напряженность, активность) резистентности организма очень тесно связан с активностью гипофиза, коры надпочечников, щитовидной и

половых желез, функция которых регулируется центральной нервной системой (через гипоталамус). В основе резистентности организма лежит его способность к структурному и функциональному приспособлению (барьерные функции, фагоцитоз, а также наличие в крови биологически активных веществ, такие как, некоторые витамины, лизосомальные катионные белки, ряд ферментов, микроэлементов и т.п.) [15,108,122,135,154]. Переутомление, очень высокая продуктивность, неудовлетворительные условия содержания, неполноценное кормление и другие факторы способны снижать резистентность организма и predispose к развитию болезней [88,92,147,153,157].

Органы и факторы резистентности у птиц

Общеизвестно, что в основе резистентности любого организма, в том числе и птиц, лежит иммунная система, которая состоит из органов, тканей, отдельных иммунокомпетентных клеток и биологически активных веществ, обеспечивающих детоксикационные, антибактериальные, противовирусные и иные виды защиты [18,219]. Так как главной составляющей иммунной системы являются иммунокомпетентные клетки, распределённые по всему организму, необходимо рассмотреть их значение и место, занимаемое в организме, подробнее.

Ряд клеток иммунной системы обладает уникальной особенностью вырабатывать сугубо специфические молекулы (антитела), различные по своему действию в отношении чужеродных веществ (ксенобиотиков) и возбудителей болезней (антигенов) [162].

В соответствии со своей функцией и ролью в обеспечении иммунитета иммунокомпетентные клетки и органы иммунной системы условно делятся на центральные и периферические [185,187,224,235].

Центральные органы иммунитета у птиц представлены костным мозгом, тимусом и бурсой Фабрициуса. Их функция - осуществление первичной

антигеннезависимой дифференцировки иммунокомпетентных клеток под воздействием специфических факторов — поэтинов, вырабатываемых стромой этих органов. При этом на поверхности иммунокомпетентных клеток происходит образование специфических рецепторов [73,135].

Костный мозг является одновременно органом кроветворения и органом иммунной системы [53,235].

Различают красный костный мозг и желтый [4]. В красном костном мозге содержатся стволовые клетки, которые при дальнейшем дифференцировании образуют эритроциты, лейкоциты, тромбоциты и моноциты [34]. Стволовые клетки заселяют также тимус и бурсу Фабрициуса, где они преобразуются соответственно в Т- и В-лимфоциты. В кровь здоровой птицы поступают только зрелые клетки [235].

Желтый костный мозг, находящийся в диафизах трубчатых костей, состоит из ретикулярной ткани, которая местами замещена на жировую. При кровопотерях в него заселяются гемопоэтические элементы и он превращается в красный костный мозг [186,187,203].

Таким образом, желтый и красный костный мозг - это два функциональных состояния одного кроветворного органа.

Тимус (вилочковая железа) контролирует формирование и нормальное функционирование иммунной системы организма путем создания разнородной популяции Т-лимфоцитов и выработкой гуморальных факторов, воздействующих на периферические органы иммунной системы [185,235,244,250].

У птиц тимус состоит из двух удлинённых долей, лежащих под кожей в области шеи [118,187].

Клеточный состав тимуса представлен преимущественно клетками двух типов: лимфоидными и эпителиоретикулярными [187,223]. В результате дифференциации лимфоидных клеток образуются зрелые Т-лимфоциты, которые мигрируют в тимусзависимые зоны периферических органов иммунной системы [254].

В мозговом слое тимуса есть эпителиальные тельца Гассала, в них предполагается, образование гормонов тимуса; кроме того они являются местом гибели аутореактивных Т-лимфоцитов [54,162].

Фабрициева bursa (бурса Фабрициуса) - центральный орган иммунной системы птиц, в котором из стволовых клеток костного мозга формируется популяция бурсазависимых лимфоцитов (В-лимфоцитов), которые заселяют тимуснезависимые зоны периферических органов и структур иммунной системы, где под влиянием антигенов происходит их размножение, вторичная дифференцировка и превращение в антителосинтезирующие плазматические клетки [54,102,186,187,196,258]. Этот орган у кур располагается в дорсальной части стенки клоаки и представляет собой полостной лимфоэпителиальный орган в виде карманообразного выпячивания [187].

Периферические органы иммунной системы обеспечивают вторичную антигензависимую дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, иммунокомпетентных клеток, способных уничтожать чужеродные агенты [235]. К периферической иммунной системе птиц в настоящее время относят селезенку, железу Гардера, слезную железу, скопления лимфоидной ткани, диффузно рассеянную в слизистых оболочках трубчатых органов лимфоидную ткань, а также многочисленные лимфоциты, мононуклеарные фагоциты и микрофаги, находящиеся в крови, лимфе, тканях и органах, где они выполняют функцию распознавания и уничтожения всего генетически чужеродного [185,235].

Селезенка - основной периферический орган иммунной системы у птиц, своеобразный биологический фильтр кровеносной системы. В ней происходит образование клеток, участвующих в реакциях клеточного и гуморального иммунитета.

Железа Гардера (железа третьего века) парный железисто-лимфомакрофагальный орган у птиц, расположенный на поверхности глазного яблока, в медиальном углу периорбиты. Она обладает высокой антителогенной активностью, продуцирует много секреторного IgA, который обнаруживается во всех эпителиальных клеточных элементах железы [256].

Слезная железа у кур – парный орган, находящийся непосредственно на глазном яблоке в орбитальном углу глаза. Она обладает слабой антителогенной активностью. У цыплят первого года жизни плазматическими клетками в органе синтезируется незначительное количество иммуноглобулинов [185, 272].

Лимфоидная ткань пищеварительного тракта у птиц представлена диффузной лимфоидной тканью, лимфоидными узелками, пейеровыми бляшками, пищеводной и слепокишечными миндалинами, дивертикулом Меккеля. Диффузная лимфоидная ткань в слизистой оболочке пищеварительного тракта состоит из малых, средних и больших лимфоцитов. Кроме того, встречаются макрофаги, псевдоэозинофилы, эозинофилы, тучные клетки [241,242,244,273].

Пищеводная (эзофагиальная) миндалина у птиц - непарное образование (состоящее из лимфоидных узелков), находящееся в основной пластинке пищевода на месте его перехода в железистый желудок [186,244].

Дивертикул Меккеля является рудиментом желточного мешка в виде складок слизистой оболочки, почти посередине тощей кишки, где находится лимфоидная ткань в виде диффузных скоплений и узелков.

Слепокишечные (цекальные) миндалины у птиц - парные лимфо-эпителиальные образования в виде овальных валиков у основания слепых кишок.

В собственном и подслизистом слоях слизистой оболочки находятся многочисленные лимфоидные узелки, состоящие из зрелых и бластных форм В-лимфоцитов.

Пейеровы бляшки – групповые лимфоидные узелки в тонком кишечнике (у курицы их насчитывается 6-8) [246].

В слизистой оболочке бронхов, в соединительной ткани пара-бронхов у птиц также обнаруживаются скопления лимфоидной ткани [142,143,144]. Кроме того, лимфоидная ткань выявляется также в почках, печени, поджелудочной железе, надпочечниках, скелетной мускулатуре, миокарде, железах внутренней секреции и половых органах.

К моменту вылупления цыпленка органы иммунной системы не завершают своего развития, а достигают морфофункциональной зрелости лишь к моменту полового созревания [102,247].

Предполагается что, хорошо развитая у птиц лимфоидная ткань в органах дыхания, пищеварительной трубке других внутренних органах функционально соответствует лимфоузлам млекопитающих [184,196]. При действии вирусов, бактерий, ряда стресс-факторов различной этиологии в тимусе и бурсе Фабрициуса усиливается гибель лимфоцитов, а часть лимфоцитов уходит в кровь. Возможно наступление ранней инволюции тимуса и фабрициевой бурсы, которая в отличие от возрастной называется акцидентальной, или временной [103]. После окончания действия стресс-фактора структура тимуса может вновь восстанавливается.

Таким образом, у птиц естественная резистентность против генетически чужеродных веществ и клеток надёжно обеспечивается органами иммунной системы, стратегически равномерно распределенными по всему организму.

Иммунокомпетентные клетки и их функции

Специфические иммунные реакции организма обеспечивают 3 типа эффекторных клеток - лимфоциты, макрофаги и микрофаги. Основными клетками иммунной системы являются макрофаги и лимфоциты. Популяция последних представлена Т- и В-клетками, которые различаются по происхождению, дифференцировке и иммунным функциям [25,54,224,225].

Т-лимфоциты образуются из стволовых клеток крови в тимусе под влиянием тимусного гормона тимозина [135,162]. Различают 6 субпопуляций Т-лимфоцитов, каждая из которых обуславливает определенный ответ.

Т-киллеры разрушают генетически чужеродные клетки организма, а также клетки, инфицированные вирусом [88,235]. Они распознают антиген при помощи своих рецепторов и прикрепляются к нему. При этом

цитоплазматические гранулы Т-киллеров перемещаются в зону контакта, их содержимое вызывает разрыв мембраны клетки-мишени и ее осмотический лизис. Возможно разрушение клетки-мишени и на расстоянии при помощи растворимых веществ, выделяемых Т-киллерами [54,135]. Они выделяют белки перфорины, которые повреждают мембрану клеток-мишеней и вызывают их гибель.

Т-хелперы в гуморальном иммунном ответе стимулируют бласттрансформацию В-лимфоцитов и превращение их в плазмоциты. Т-хелперы стимулируются антигеном и интерлейкином-1 макрофагов [225]. Под этим влиянием они вырабатывают медиатор интерлейкин-2 (Т-хелперный фактор), который и стимулирует бласттрансформацию В-лимфоцитов [135,216].

Т-супрессоры подавляют реакцию бласттрансформации В-лимфоцитов и, следовательно, иммунные реакции. Угнетение иммунного ответа Т- и В-лимфоцитов на антигены происходит за счет выделения Т-супрессорами растворимых факторов [73].

Т-ампликаторы, выполняют функцию поддержки Т-лимфоцитов, не рециркулируют, располагаются в тимусе и селезенке, короткоживущие [25].

Т-эффекторы образуются в результате взаимодействия Т-лимфоцитов и антигенов, секретируют медиаторы иммунной системы — лимфокины [54,225].

Т-лимфоциты иммунной памяти – долгоживущие Т-хелперы и Т-супрессоры, потомки клеток, встречавшихся с антигенами и сохранивших к ним рецепторы [216].

Они обеспечивают клеточно-опосредованный иммунитет, участвуют в аллергических реакциях замедленного типа, трансплантационном и противоопухолевом иммунитете, развитии аутоиммунных процессов, в защите от вирусных, бактериальных и паразитарных болезней [54].

Таким образом, система Т-лимфоцитов птиц, являясь активатором клеточного, хелпером и супрессором гуморального иммунного ответа, удерживает в равновесии всю иммунную систему.

В-лимфоциты также имеют важное значение в защите организма от многих бактериальных и вирусных болезней, в развитии аллергии немедленного типа и некоторых аутоиммунных болезней.

В-лимфоциты – клетки размером 8,5 мкм, имеют рыхлое, слабо окрашенное ядро, в цитолемме высока активность щелочной фосфатазы, а на поверхности имеют большую плотность иммуноглобулинов [34,135,225] Они происходят из стволовых клеток костного мозга и под влиянием хемотаксического фактора мигрируют в бурсу Фабрициуса. Там происходит не только антигеннезависимый, но и антигензависимый этап дифференцировки В-лимфоцитов [54].

Впоследствии В-лимфоциты, являясь предшественниками антителосинтезирующих плазматических клеток, заселяют бурсазависимые зоны периферических органов иммунной системы. Бурсазависимые зоны представлены лимфоидными узелками селезенки, гардеровой и слезной желез, дивертикула Меккеля, пищеводной и слепкишечных миндалин, лимфоидных агрегатов кишечника и органов дыхания [54,225,235]. В этих зонах находятся фолликулярные дендритные клетки (отростчатые макрофаги), которые создают микроокружение для В-лимфоцитов и передают им информацию об антигене. Они также участвуют в иммунологической памяти.

При наличии Т-хелперного фактора В-лимфоциты трансформируются в плазмоциты, секретирующие иммуноглобулины, обеспечивающие гуморальные реакции иммунитета (IgG, IgA, IgM), а также в В-клетки иммунной памяти [216]. Каждая плазматическая клетка способна синтезировать, как правило, иммуноглобулины одного класса [137]. В процессе эмбрионального развития птицы первыми появляются клетки синтезирующие IgM, а перед вылуплением птенца в лимфоидной ткани эмбриона появляются клетки, способные синтезировать IgG. Есть данные [102], что они происходят из клеток, синтезирующих IgM, но их клеточное окружение или гуморальные факторы заставляют переключаться на синтез IgG. И лишь в начале постэмбрионального периода птицы начинается синтез IgA.

Плазмоциты имеют размеры 7-10 мкм, овальную форму с эксцентрично лежащим ядром [34,88,216].

Макрофаги являются вторым типом клеток, участвующих в формировании иммунного ответа. Они представлены моноцитами крови, гистиоцитами соединительной ткани, купферовскими клетками печени, макрофагами легких, свободными и фиксированными макрофагами костного мозга, селезенки и лимфатических узлов. В красном костном мозге из стволовых клеток формируются моноциты (моноцитопоз), которые с током крови попадают в ткани и превращаются в тканевые макрофаги [113].

Ферменты лизосом осуществляют обработку антигена и его разрушение до мелких высокоиммунных комплексов. Эти комплексы связываются с антигенами иммунного ответа макрофага и выходят на его поверхность [88,135,225].

Макрофаги активно взаимодействуют с Т- и В-лимфоцитами через межклеточные мостики и медиаторы иммунитета, образуя трехклеточную систему, осуществляющую и контролирующую иммунный ответ. Захват, переработка антигена и передача его лимфоцитам – наиболее важная функция макрофагов [135,162,191,216].

Секреторная функция макрофагов реализуется выработкой, бактерицидных веществ, ряда ферментов, также оказывающих бактерицидное действие [88,95], интерферона, участвующего в противовирусном иммунитете [213], компонентов комплемента [162], факторов, стимулирующих размножение лимфоцитов (интерлейкин-1), клеток-предшественниц миелопоэза, а также фибробластов [95,135,235]. Имеются сведения [95,121], что макрофаги синтезируют и секретируют вещества, подавляющие деление лимфоцитов, опухолевых клеток (фактор некроза опухолей).

Функция фагоцитоза обусловлена тем, что клетки мононуклеарных фагоцитов могут фагоцитировать и разрушать антиген до простых соединений – воды и углекислого газа. Они способны фагоцитировать и крупные частицы, не являющиеся антигенами, например, частицы угля, пыли.

Микрофаги также играют важную роль в развитии иммунных реакций у птиц, они представлены псевдоэозинофилами, эозинофилами и тромбоцитами.

Псевдоэозинофилы — это округлые клетки размером в 4-9 мкм [31,34]. Способны к амёбовидному движению, поэтому их форма может меняться.

Гранулы псевдоэозинофилов окрашиваются кислыми красителями в малиново-красный цвет. В гранулах содержатся ферменты: щелочная фосфатаза, пероксидаза, белок фагоцитин с бактерицидными свойствами. Щелочная фосфатаза и пероксидаза разрушают ДНК бактерий, фагоцитин вызывает гибель бактерий еще до фагоцитоза.

Свои основные функции псевдоэозинофилы выполняют в тканях, а не крови [31], поэтому есть тканевый и сосудистый пулы псевдоэозинофилов.

Основной функцией псевдоэозинофилов является фагоцитоз, который обеспечивается наличием в их цитоплазме запасов гликогена и высокой активностью протеолитических ферментов. Установлено, что псевдоэозинофилы птиц по сравнению с нейтрофилами млекопитающих обладают более низкой фагоцитарной активностью [31,34].

Эозинофилы имеют округлую форму и диаметр 10-12 мкм [88,216].

Ядро эозинофилов птиц имеет обычно два сегмента. Характерный признак - крупная ацидофильная (оранжево-красная) зернистость в цитоплазме. [62,73]. Содержат фермент пероксидазу и другие ферменты лизосом (т.е. это лизосомы). Эозинофилы способны к самостоятельному движению и фагоцитозу. Хемотаксические воздействия на эозинофилы оказывают комплекс антиген-антитело, гистамин.

Тромбоциты – удлинённые клетки, чаще имеют форму неправильного эллипса [31,34,88].

Они содержат серотонин, АТФ, АДФ. АДФ вызывает агрегацию тромбоцитов при повреждении стенки сосуда и кровотечении. Серотонин стимулирует сокращение стенки поврежденного кровеносного сосуда, а также вначале активизирует, а затем ингибирует агрегацию тромбоцитов.

Наряду с макрофагами, псевдоэозинофилами и эозинофилами, тромбоциты птиц обладают способностью к фагоцитозу. По данным [34], тромбоциты обладают большей фагоцитарной активностью, по сравнению с моноцитами и псевдоэозинофилами, но их переваривающая способность несколько ниже.

В данной работе уделено особое внимание, как одному из ведущих маркёров резистентности, исследованию нейтрофильных гранулоцитов - зернистых лейкоцитов, характеризующихся наличием крупного сегментированного ядра и присутствием в цитоплазме специфических гранул, легко выявляемых в световой микроскоп. Гранулы представлены крупными лизосомами и пероксисомами, а также видоизменениями этих органелл.

Гранулоциты образуются в костном мозге из общей клетки-предшественника. Индукторами гранулоцитопоэза являются интерлейкины, гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор и гранулоцит-стимулирующий фактор. Известно, что гранулоциты участвуют в патогенезе многих заболеваний животных и человека, поскольку они не только поглощают и обезвреживают бактерии, но и высвобождают комплекс различных агентов, которые при определенных условиях способны принимать участие в регуляции важнейших гомеостатических систем организма, в том числе свертывающей, фибринолитической, кининовой, связывание комплемента [19,108,117]. Было обнаружено, что гранулы могут содержать лизосомальные катионные белки, которые собственно и обеспечивают защиту организма от многих возбудителей болезней. Их стало возможным подсчитать с помощью лизосомально-катионного теста по методу В. Е. Пигаревского [149], используя специфическую окраску под обычным световым микроскопом. Для изучения содержания гранул лизосомальных катионных белков в гранулоцитах требуется специальное окрашивание мазков крови красителем «прочный зеленый» [150]. При микроскопии гранулы лизосомальных катионных белков дифференцируются как ярко-зеленые округлые образования. По степени из содержания можно с высокой степенью достоверности определять уровень неспецифической резистентности организма.

Гуморальные факторы неспецифической иммунной реактивности

В неспецифическом гуморальном иммунитете против бактерий и вирусов участвуют белки острой фазы воспаления: С-реактивный белок, (З-лизины, интерфероны, система комплемента, лизоцим и др.

Лизоцим - катализирует гидролиз гликозидной связи между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозамином в пептидогликане клеточной стенки бактерий, что приводит к их лизису [28,95,135,216]. Наиболее чувствительны к нему грамположительные бактерии. В лейкоцитах, особенно макрофагах, лизоцима содержится 10 г/кг, в плазме крови - 0,01 г/кг, в молоке - 0,04 г/кг, в слезной жидкости - 7 г/кг, слюне - 0,2 г/кг. Он имеется в слизи, во внутренних органах, селезенке, легких, почках и др. Обнаружен в бактериях (*Bac. subtilis*) и в бактериофагах.

Активность лизоцима в сыворотке крови кур определяют по лизису чувствительных к нему *Micrococcus lysodenticus* [141].

В-лизины – катионные сывороточные белки, термостабильны, обладают бактерицидной активностью к аэробным спорообразующим бактериям [32,102]. Принято считать, что они имеют гипофизарно-гипоталамическое происхождение. Их активность наиболее выражена в гипоталамусе, что позволило предположить о их близкой природе к вазопрессину.

Активность бета-лизинов сыворотки крови птиц может быть связана с условиями их содержания. Полагают, что действие бета-лизинов направлено в первую очередь против грамположительной спорообразующей микрофлоры. Цитоплазматическая мембрана служит мишенью для бета-лизинов. Бета-лизины обладают еще и свойствами, направленными на поддержание гомеостаза. Повышение активности этих белков во взрослом организме служит сигналом о нарушениях регуляции гомеостаза, приводящих к включению механизмов обратной связи.

С-реактивный белок синтезируется гепатоцитами и макрофагами под влиянием интерлейкинов. Связывается рецепторами микро- и макрофагов, Т-

лимфоцитов и активирует их. Действие С-реактивного белка на бактерии напоминает действие антител [235]. При участии ионов кальция С-реактивный белок неспецифично связывается с микроорганизмами, если в их мембране есть фосфорилхолин. Образовавшийся комплекс активирует комплемент по классическому пути подобно комплексу антиген-антитело. В результате микробы или лизируются, или опсонизируются, что способствует фагоцитозу [224].

Фибронектин (холодовой нерастворимый глобулин) синтезируется макрофагами, связывается с бактериями, коллагеном и другими клеточными и неклеточными структурами [95].

Интерфероны - гетерогенная группа белковых молекул, блокирующих репликацию вирусов в клетках. Известно 4 типа интерферонов - α -интерферон, Ω -интерферон (лейкоцитарный), β -интерферон (фибробластный), γ -интерферон – иммунный (Т-клеточный) [54,216].

Они вырабатываются клетками, инфицированными вирусом, а так же после их стимуляции веществами - интерферогенами или вакцинами. Интерфероны видоспецифичны. При стимуляции клеток иммунной системы вирусными и другими антигенами они выделяются в значительном количестве.

Лектины - реактивный фактор и маннансвязывающий белок обнаружены в сыворотке крови [95,135]. Реактивный фактор лизирует грамотрицательные бактерии без антител и С1 компонента комплемента. Маннансвязывающий белок в присутствии Ca^{2+} связывает маннозу и липополисахариды грамотрицательных бактерий, опсонизируя их, усиливает фагоцитоз, может запускать классический путь активации комплемента.

Комплементом называют сложную систему белков (более 20) сыворотки крови, обладающих протеолитической активностью [88,141,222]. Компоненты активированного комплемента связываются с рецепторами для комплемента, имеющимися на клетках иммунной системы. Взаимодействуя с этими рецепторами клеток, продукты активации комплемента стимулируют функции лейкоцитов, запускают воспаление и усиливают противомикробный иммунитет. Так, мембраноатакующий комплекс активированного комплемента может

лизировать некоторые бактерии. С другой стороны, компоненты классического или альтернативного пути, связываясь с бактерией, опсонуют ее, являясь связующим звеном между ней и фагоцитом [28,95,135,216].

Учитывая вышеизложенное, можно утверждать, что определение показателей неспецифической гуморальной иммунной реактивности может быть чрезвычайно ценным при получении необходимых сведений для характеристики состояния резистентности птиц при различных физиологических или патологических состояниях.

Качество естественной резистентности определяется преимущественно неспецифическими защитными факторами организма, которые связаны с деятельностью гормональной, а также центральной и вегетативной нервной систем, с функцией регуляции метаболизма на клеточном и гуморальном уровне [29,30,34,89].

Рассматривая резистентность организма целиком, необходимо понимать, что она, кроме всего вышесказанного, складывается из резистентности каждой клетки организма (эритроциты, гепатоциты, лейкоциты и т.д.), а также (что чрезвычайно важно, но не всегда учитывается) из резистентности (в широком понимании) всех симбионтов (сапрофиты) и паразитирующих организмов, находящихся в одном экологическом (микрoэкологическом) пространстве. В этой связи актуальным становится методология оценки уровня (эффективности) резистентности организма животных и птиц. К сожалению, не существует единой общепринятой системы (теоретической и методологической) оценки качественно-количественных характеристик неспецифической резистентности, например, как при контроле специфического иммунитета – качественно-количественное определение специфических антител.

Тем не менее, существует большое количество доступных и информативных показателей неспецифической резистентности животных, которые позволяют оценивать и прогнозировать состояние их здоровья и эффективность лечебно-профилактических мероприятий [13,33,228]. Это общепринятые клинические методы оценки, такие как: суточный прирост живой

массы тела, сохранность поголовья [83], а также ряд иммунологических методов, включающих цитологические, и биохимические. В частности, зачастую косвенными, но достаточно объективными методами оценки резистентности являются определение в крови: эритроцитов [69,220]; лейкоцитов [69], тромбоцитов, лейкограммы [205], лимфоцитов [35,195]; Т- и В-лимфоцитов [6,193,205]; фагоцитарной активности лейкоцитов, фагоцитарного индекса, активности пероксидазы лейкоцитов [66]; гемоглобина, общего белка сыворотки крови и фракций сывороточных белков [220]; уровня комплемента в сыворотке крови [35,195]; иммуноглобулинов сыворотки крови; бактерицидной активности сыворотки крови; активности ферментов сыворотки крови [12,220]; лизоцима в сыворотке крови [195]; лизосомально-катионных белков [149]; пропердина в сыворотке крови [195]; лактоферина в сыворотке крови [195]; цитокинов, интерферонов в сыворотке крови [195,235]; макроэлементов в сыворотке крови [220]; витаминов [220] и др. Кроме того, представляют интерес микробиологические методы, позволяющие определять резистентность организма непосредственно в системе «этиотропный фактор (возбудитель болезни) – организм» *in vitro*, например, определение бактерицидной активности сыворотки крови, или *in vivo*, например, методом коли-клиренса [48].

В нашей работе при определении уровня неспецифической резистентности мы воспользовались такими показателями, как уровень эритроцитов, лейкоцитов крови и лейкоцитарная формула, содержание лизосомально-катионных белков, бактерицидная активность сыворотки крови. Этот минимум позволяет нам в достаточной мере оценивать уровень резистентности у кур-несушек и цыплят-бройлеров, а также влияние на нее тех или иных факторов внешней среды и эндогенных воздействий, включая возбудителей инфекций, токсины, фармакологические препараты и кормовые добавки, собственные метаболиты и т.п.

Воздействие на резистентность

Неспецифическую резистентность организма животных можно укреплять и стимулировать, за счет обеспечения их биологически полноценным (сбалансированным) кормлением, создавая оптимальные условия содержания [97,126,148,152,156,227,229,239,240,252,269,271].

Решение вопросов, связанных с минимизацией негативных последствий производственного стресса у сельскохозяйственных животных чрезвычайно важно для предотвращения значительного экономического ущерба [155,200,201,209].

В частности, для предупреждения стресса и его последствий наиболее практичным является использование средств, обладающих адаптогенными и стресс-протекторными свойствами, положительно влияющими на иммунный статус организма [8,40,76,202,211,231,260].

В настоящее время имеется множество фармакологических средств способствующих достаточной мобилизации защитных сил организма. [65,101,110,120,123,154,160,192,207,268].

В настоящее время особый интерес стали вызывать средства, воздействующие на антиоксидантную систему организма [67,127,167,169,170,173,174,229]. Известно, что антиоксидантные препараты обладают широким спектром адаптогенных эффектов, а также у них обнаружены свойства влияния на иммунную систему организма. Большое разнообразие препаратов антиоксидантного действия обуславливается сложностью АО системы организма и множественностью механизмов реализации АО эффектов. Это зачастую не позволяет дать однозначных рекомендаций к их применению. Существенным является, что без некоторых веществ АО система любого живого организма вообще не может существовать (токоферол, Se и др.) или нормально функционировать [68,74]. Но, в тоже время, ряд из них достаточно токсичны и требуют соблюдения точного дозирования, что может затруднять их свободное применение (например, селенит натрия, микроэлементы). Однако, при

корректном дозировании они способствуют увеличению прироста живой массы птицы, улучшению здоровья и, кроме того, возможно положительное влияние на иммунную систему птиц [34,68,206,218]. Естественно, что поиск и внедрение новых средств, удобных и эффективных в применении, имеющих меньшее токсическое и вредное побочное действие на организм животных является чрезвычайно актуальным.

Видимый клинический эффект применения антиоксидантных средств достигается путём их сложного метаболического процесса взаимодействия с большим разнообразием химически активных кислородсодержащих форм, получивших обобщенное название свободные радикалы. К числу наиболее важных свободных радикалов относятся гидропероксильный радикал (НО), супероксидный анион-радикал (O_2^-), синглетный кислород (1O_2), гидроксильный радикал (НО \cdot), алкоксильный радикал (RO $_2$). Образованию активных форм кислорода способствует появление в клетках перекиси кислорода (H_2O_2) и гидроперекисей (ROOH). Определённую угрозу для клеток представляет и избыточное образование активных форм азота, в первую очередь оксида азота (NO) и пероксинитрина (ONOO) [125]. Свободные радикалы обеспечивают перекисное окисление липидов, которое усиливается при любых негативных воздействиях на организм. [41,44,116]. Антиоксидантная система организма, состоящая из ферментов, таких как супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза, а также инактиваторов свободных радикалов неферментной природы (витамины Е, А и С и др.) обеспечивают защитную функцию. Имеются сообщения о синергизме ряда неферментных антиоксидантов, например - витаминов А и Е. Антиоксидантными свойствами обладают также серосодержащие соединения: метионин и натрия тиосульфат [111,124].

Наиболее опасным для организма является так называемый "окислительный стресс", который возникает из-за избытка свободных радикалов и их высокой биохимической активности, что в свою очередь, усиливает процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и приводит к нарушениям

структуры клеточных мембран, генным мутациям, гибели клетки [171]. Любые неблагоприятные для живого организма условия, приводящие к патологии, вызывают избыточное накопление свободных кислородсодержащих радикалов и могут приводить к разрушению внешних и внутренних мембран с последующим высвобождением денатурированных протеинов в клеточное пространство, что обуславливает начало дегенеративного или воспалительного процесса [116,267].

Известно множество антиоксидантных средств, которые используются в ветеринарии, например, препараты селена, аскорбиновая кислота, токоферолы, каротиноиды, убихинон, флавоноиды и многие другие. Некоторые вещества, кроме того обладают также и антигипоксантной активностью, например, убихинон, флавоноиды, мексидол. Сочетанным и более выраженным антигипоксантным эффектом обладают препараты полифенольной структуры, например, натриевая соль [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] (митофен, олифен) [125].

Натриевая соль [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] обладает витаминоподобным действием, проявляет антигипоксическую, антиоксидантную, антистрессовую активность за счёт уменьшения свободнорадикального окисления клеточных структур живого организма. Под его воздействием повышается коэффициент аэробного (митохондриального) окисления клеток, что способствует возрастанию усвоения энергии и/или более экономичного её расходования организмом. В виду весьма низкой токсичности (4-й класс) и широкого спектра действия он оказался весьма перспективным для использования в народном хозяйстве и, в частности, в птицеводстве [176,182].

Учитывая возможность фармакологического влияния полифенолов на резистентность организма животных, их применение может быть весьма интересным для сельского хозяйства. В тоже время известно множество фармакологических средств на основе растительного сырья, способных оказывать влияние на иммунологическую реактивность организма и обладающих стимулирующим и адаптогенным действием, повышающими продуктивность сельскохозяйственных животных, например: лимонник китайский, элеутерококк,

женьшень, аралия маньжурская [36,37,38,39,105], золотой корень, [81,104,214,215], левзея сафлоровидная [87,163], родиола розовая [82,164], и многие другие.

Кроме того, с подобными адаптогенными эффектами воздействия на обменные процессы животных и птиц возможно использование ряда средств других фармакологических групп, например: маримикс [197], мумие [22], аэрозоли агаро-тканевого препарата [46,198], эрготропные вещества [226], этимизол [208], витамины группы А, С, В [23], аскорбат натрия [61,128], рибофлавин, цианокобаламин, фолиевая и аскорбиновая кислоты [51,237], протогигролитин (ферментный препарат) [75], пектофоедин, целловиридин [76,146], молочная кислота [199], парааминобензойная кислота [136], янтарная кислота [8,9], сухая молочная сыворотка [43,45,93,106,204], травяная мука [78], тималин, тимогемин, бурсилин [109,134], тимоген [2].

Особый интерес представляет использование в ветеринарной практике для стимулирования гуморальных и клеточных факторов иммунитета и нормализации обмена веществ у животных микробных препаратов прямого действия, содержащие живые микроорганизмы - симбионты желудочно-кишечного тракта – пробиотики, например: ацидофилин сухой и пропиовит [23,198,200], пробиотики Ветом-1.1 и Ветом-3 [138,139,140], мультибактерин [233], Биум [177] и другие.

В результате применения вышеуказанных препаратов можно существенно снизить потери в животноводстве и птицеводстве и даже полностью предупредить их. Анализ рассматриваемой литературы по подавляющему большинству вышеуказанных средств показывает многогранность сопутствующих (побочных, в хорошем понимании этого термина) эффектов, одним из которых является антиоксидантный. Учитывая, что и антиоксидантное действие различных средств не является однородным по силе, механизмам и проявлению, является актуальным поиск и изучение оптимальных решений по включению антиоксидантов в кормовые смеси для сельскохозяйственных животных и птиц.

О применении антиоксидантов (преимущественно, витаминов) для стимуляции иммунной системы птиц сообщают многие ученые [73,111,234].

Витамину А (ретинолу) и его провитамину β -каротину отводится существенная роль в становлении реакций иммунитета у птиц и млекопитающих. На основании результатов многих исследований сделан вывод о необходимости витамина А и β -каротина для нормального функционирования органов иммунной системы – прежде всего тимуса и селезенки. Ретинол повышает уровень антител в сыворотке крови, стимулирует активность естественных киллерных клеток (больших зернистых лимфоцитов) и влияет на пролиферацию Т-хелперов. Он способен ингибировать иммуносупрессивный эффект гидрокортизона. По сравнению с витамином А роль β -каротина в организме остается менее изученной. Однако установлено, что витамин А и β -каротин обеспечивают защитное влияние против ряда инфекционных болезней, изменяют многие реакции иммунной системы организма [216,243]. Предполагается [151], что в основе усиления иммунных реакций организма лежит способность витамина А каким-то образом снимать с иммунной системы толерантность к антигенам. Среди других фактов иммуностимулирующего действия витамина А В.Н. Суколинский [206] отмечает возрастание функциональной активности лизосомального аппарата печени и избирательной активности отдельных лизосомных гидролаз в селезенке и прежде всего кислой эндопептидазы.

Витамин Е (токоферол) повышает устойчивость организма к инфекционным болезням [257]. При этом активизируется как клеточный, так и гуморальный иммунитет, а в крови увеличивается количество Т- и В-лимфоцитов за счет стимуляции митотической активности их бластных форм, возрастают количество антителообразующих плазмочитов и титр антител, особенно IgG, стимулируется активность Т-хелперов, естественных киллерных клеток и фагоцитоз.

Аскорбиновая кислота уменьшает лимфоцитотоксический эффект, ассоциированный с глюкокортикоидами, и служит иммунологическим промотором в тканях от воздействия стероидов. Установлена протективная роль аскорбиновой кислоты в предотвращении токсикоза птиц, вызванного скормливанием смеси аминофеназона и нитрата натрия. В процессе биосинтеза в мембранах клеток усиливается перекисное окисление липидов.

Защитную функцию при этом выполняет антиоксидантная система, состоящая из селеносодержащих ферментов (каталаза, глутатионпероксидаза), металлосодержащего (Cu, Zn) фермента супероксиддисмутаза и инактиваторов свободных радикалов неферментной природы (витамины E, A и C). Антиоксидантными свойствами обладают также серосодержащие соединения: метионин, цистеин и натрия тиосульфат [26,27].

Так как, антиоксидантные препараты обладают адаптогенным, а также косвенным противоинфекционным действием, исследования по изучению возможности увеличения прироста живой массы, улучшения адаптации птицы с повышением сохранности поголовья, а также создания более напряженного и продолжительного поствакцинального иммунитета имеют важное научно-практическое значение.

В лаборатории фармакологии и токсикологии ВНИВИП изучается влияние на организм кур нового в птицеводстве антиоксидантного средства – натриевой соли [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] (митофен, олифен). Оно относится к синтетическим производным полифенолов и является структурным (химическим) и функциональным аналогом коэнзима Q₁₀ – естественного метаболита клеток организма животных. В виду весьма низкой токсичности и широкого спектра действия оно весьма перспективно для использования в народном хозяйстве и, в частности, в птицеводстве [181,182]. Вместе с тем, фармакологическое влияние митофена на естественную резистентность у птиц не изучены.

Целью наших исследований явилось изучение фармакологического влияния антиоксидантного и антигипоксантного препарата митофена на

продуктивность, неспецифическую резистентность и иные показатели здоровья (клинические, гематологические, иммунологические) цыплят-бройлеров и кур-несушек, а также при иммунизации против ряда инфекционных заболеваний (инфекционной бурсальной болезни, ньюкаслской болезни и метапневмовирусной инфекции).

Для понимания значимости антиоксидантов для всего живого необходимо представлять, что в эволюционном аспекте кислород для большинства живых организмов на земле является обязательным компонентом среды обитания, к которой они непрерывно приспосабливались естественным образом, поскольку с момента зарождения жизни на земле содержание кислорода в атмосфере неуклонно увеличивалось практически от нуля до 21% - нынешнего уровня. В ответ на агрессивные по отношению ко всему живому окислительные свойства кислорода природа выработала защитные механизмы (в частности, антиоксидантную систему), предохраняющие живые организмы от избыточного накопления в них кислорода и токсических продуктов свободнорадикального окисления (СРО) [119].

Каждый конкретный организм способен индивидуально изменять потребление кислорода в зависимости от уровня нагрузок, что собственно и обеспечивает интенсивность метаболизма в целом и его энергетические потребности.

Считается, что для предотвращения окислительного стресса в организме эволюция создала 2 линии защиты:

Первая линия - ферментная антиоксидантная система организма:

- супероксиддисмутаза – металлосодежащий (Cu, Zn, Mn) протеин в 2 формах (цитозольной и митохондриальной);

- каталаза – гемопротеин, катализирует разложение H_2O_2 .

- глутатионпероксидаза – Se-содержащий фермент, катализирует восстановление H_2O_2 за счёт окисления глутатиона.

Вторая линия - природные ферментные антиоксиданты:

- витамин Е (токоферол) в виде 7 изомеров с одинаковой антиоксидантной активностью, выполняет важные биологические функции: участие в тканевом дыхании, реакциях фосфорилирования, реакциях иммунного ответа, обмене нуклеиновых кислот, синтезе аскорбиновой кислоты, убихинона, выполняет антианемическую функцию, защищает липиды от перекисного окисления;

- витамин С (аскорбиновая кислота, аскорбат) синтезируется в организме многих животных и птиц. Биологические функции: участие в редокс процессах, регуляции углеводного обмена, процессах свёртывания крови, стимуляции гемопоеза, образовании гормонов надпочечников, нормализации проницаемости капилляров, оптимизация процессов микроциркуляции тканей [127].

Однако следует принять, что это упрощенный взгляд на весьма сложную систему регуляции окислительно-восстановительных реакций в организме, в которой принимают участие практически все биохимические системы организма, что взаимообусловлено необходимостью любой живой клетке, как минимум, потреблять и накапливать энергию, при этом сохраняя свой гомеостаз.

Совершенно естественно присутствие свободных радикалов в здоровом организме, а их наличие является необходимым условием для функционирования антиоксидантной системы. Например, липидные перекиси постоянно определяются в тканях живых организмов в норме, в крайне низких концентрациях (в пределах $(0,1-0,8) \cdot 10^{-6}$ М/г тканевых липидов) [79,80,115]. Кроме того, известно, что супероксидный радикал участвует в формировании клеточного иммунитета, способствует высвобождению жирных кислот из мембранных липидов, индуцирует апоптоз - запрограммированную гибель клеток, оказавшихся вредными, устаревшими или просто ненужными для организма [100]. Низкие концентрации гидроперекисей необходимы для метаболизма живой клетки, а как ускорение, так и резкое торможение свободно-радикального окисления (СРО) приводит к так называемой свободнорадикальной патологии, для лечения и профилактики которой целесообразно применение антиоксидантов (АО). Таким образом, можно заключить, что антиоксиданты (антиокислители, биоантиокислители) - соединения, способные в малых

концентрациях тормозить свободнорадикальное неферментативное окисление энергетических субстратов, в первую очередь ненасыщенных жирных кислот [49,78].

По химической природе вещества, способные тормозить СРО, относятся к большому количеству разных соединений, важнейшие из которых следующие: фенолы (токоферолы, эвгенол и его производные), полифенолы (конидендрин, пирокатехин, производные галловой кислоты), флавоноиды (рутин, кверцетин), некоторые стероидные гормоны, лецитин, кефалин; серосодержащие соединения (метионин, цистеин, глутатион); ряд органических кислот (аскорбиновая, янтарная, лимонная, никотиновая, бензойная и другие); эфирные и водные вытяжки из некоторых лечебных грязей (пелоидов) [79].

По механизму действия их условно классифицируют как АО косвенного (опосредованного) действия и прямого (неопосредованного) действия.

Кроме того, по механизму действия их можно сгруппировать в 5 основных категорий:

1. доноры протона – соединения с подвижным атомом водорода, перехватывают СР (фенолы, тиолы, диенолы и др.).
2. полиены – вещества с несколькими ненасыщенными связями, способны ковалентно присоединять по двойной связи различные СР (ретиноиды, каротиноиды).
3. катализаторы - катализируют элиминацию активных форм кислорода (АФК) и промежуточных продуктов СРО без образования новых СР.
4. ловушки радикалов – эффективно связывают супероксидные и гидроксильные радикалы.
5. комплексообразователи – ингибируют металлотависимые реакции СРО за счёт связывания катионов металлов переменной валентности (трилон Б, версен, некоторые флавоноиды и др.) [123].

Классификация АО по химической природе представляется более верной, так как при современном развитии химической промышленности, многие природные АО с успехом синтезируются; появляются новые препараты, аналоги

уже имеющихся, но с более выраженным АО действием (митофен, мексидол, комплексные препараты и т.д.) [125].

Из имеющихся на сегодняшний день природных АО одними из наиболее изученных являются витамины Е, С и микроэлемент селен.

Показано что эти витамины и селен являются мощными АО. Они работают в комплексе и дополняют или поддерживают друг друга (например, витамин Е - прерывает реакцию окисления липидов и видоизменяется в этих реакциях, но витамин С его восстанавливает и вводит в строй также он «оберегает» селен). Глутатионпероксидаза переводит продукты ПОЛ в менее вредные и «оберегает» витамин Е [107]. Витамин Е - это основной АО, защищающий и укрепляющий клеточные мембраны. Будучи своеобразной ловушкой для свободных радикалов, играет существенную роль в функционировании АО защиты всего организма. Имеются данные об участии витамина Е в синтезе гема - простетической группы ряда гемопротеинов. В отсутствии этого витамина нарушается синтез дегидротазы b-аминолевуленовой кислоты - предшественника синтеза гема. Гемсодержащие ферменты являются важными компонентами тканевого дыхания, которое нарушается при дефиците витамина Е. Все естественные антиоксиданты оказывают свое защитное действие совместно, поэтому снижение содержания одного повлечет нарушение всей антиоксидантной защиты в целом [52,100,145].

Особенно широко селен стали использовать в животноводстве при лечении и профилактике ряда заболеваний (в частности, беломышечной болезни молодняка крупного рогатого скота). Известно, что селен, участвует в регуляции обмена углеводов, белков, липидов и энергии. Так, применение селенита натрия в терапевтических дозах на телятах, показало, что данный препарат активизирует холинергическую систему, приводит к усилению секреторной функции пищевых желёз, улучшает все процессы, происходящие в органах пищеварения [84]. При этом, учитывая, что селенит и селенат натрия обладают высокой токсичностью (средне смертельная доза селенита натрия для различных видов животных составляет от 0,59 до 18 мг/кг живой массы) особый интерес вызывают селенорганические препараты, например, такие как ДАФС-25 (содержит не

менее 90% диацетофенонилселенида), который существенно менее токсичен (2017,4 мг/кг живой массы), чем селенит натрия, и содержит селен в органической, т.е. более биодоступной форме. ДАФС-25 обладает выраженными антитоксическими свойствами, значительно повышает иммунный статус птицы, повышает яйценоскость, снижает затраты корма [14].

Известен положительный опыт применения препаратов дикарбоновых кислот для повышения общей резистентности и улучшения продуктивности животных. Они сравнительно малотоксичны и практически экологически безопасны. Одним из таких препаратов является яктон (производное янтарной кислоты), который зарекомендовал себя как хороший адаптоген при стресс-воздействиях в птицеводстве [132].

Также, при поиске средств, повышающих специфическую активность химиопрепаратов применяли органические кислоты: янтарную, фумаровую совместно с диоксидином и тетрахлоридом тартратом при экспериментальном колибактериозе белых крыс. Дополнительное применение органических кислот повысило эффективность химиотерапии до 91% (янтарная кислота), и до 91,7% (фумаровая кислота) [50].

При использовании кормовой добавки Клим 1 (смесь органических кислот: лимонная, янтарная, малоновая кислоты) в опытах на цыплятах бройлерах было отмечено, что в рекомендуемых количествах (300 г/т корма) существенно усиливается антиоксидантная способность организма, что косвенно выражалось увеличением привесов (на 18,8 г в сутки в сравнении с контролем). В тоже время при удвоенной дозе добавки (600 г/т корма) стимуляция антиокислительной защиты организма проявлялась слабее (на 8,52 г привеса в сутки по отношению к контролю) [173].

При сравнении янтарной кислоты и метилурацила как адаптогенов при транспортном стрессе у цыплят, были получены данные о значительном снижении содержания в крови медиаторов стресса (глюкоза, малоновый диальдегид, ионы калия). Препараты задавали в дозе 25мг/кг на протяжении 14 дней подряд [8].

При применении препарата эмицидин (2 этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат) сапфировым и коричневым норкам получены данные о благоприятном воздействии препарата на жизнеспособность животных и на повышение качества шкурок [137].

В звероводстве также хорошо зарекомендовал себя препарат триофен (биотоп), который обладает выраженной антиоксидантной активностью, и является близким аналогом митофена (олифен). В опытах было показано, что триофен обеспечивает нормализацию белкового обмена, проявляет гепатозащитное действие у норок, что способствует увеличению живой массы и 100% сохранности щенков, а также повышает качество пушнины [172].

Вызывает определённый интерес применение комплексных препаратов, например, гемовит-плюс - комплекс этилендиаминдиантарной кислоты с железом, марганцем, медью, цинком, кобальтом, селеном и йодом – показал себя эффективным для стимуляции эмбрионального развития бройлеров. Хорошие результаты получены также при обработке инкубационного яйца водными растворами янтарной кислоты (до инкубации и на 18,5 сутки инкубации) на фоне исключения использования формальдегида [42].

Специалистами ГНУ ВНИВИП в ходе проведенных опытов в лаборатории фармакологии и токсикологии и в виварии было показано, что мексидол (производное янтарной кислоты) обладает выраженными антигипоксическими свойствами при низкой токсичности. Исследование токсичности препарата на куриных эмбрионах показало, что LD_{50} составляет 244,36 мг на 1кг массы эмбриона, что согласно классификации токсичности относит данный препарат к 4 классу [158,194].

Кроме того, многие антиоксиданты используются как добавки в кормовых смесях, что в свою очередь способствует лучшей сохранности корма, а также оказывает положительное влияние на окислительно-восстановительные реакции организма животных и птиц. К примеру, использование кормового комплекса Фунгитокс (Ветохит) при выращивании цыплят-бройлеров показало увеличение

среднесуточного прироста живой массы тела, снижение малонового диальдегида (по отношению к контрольной группе) [174].

К настоящему времени арсенал антиоксидантных средств, применяемых в ветеринарии, расширяется – митофен, олифен (гипоксен), триофен, - это полифенольные АО [124]. В частности, аналогичные препараты испытаны и хорошо себя зарекомендовали в общемедицинской и ветеринарной практике при лечении ишемических состояниях различного генеза, при обструктивном бронхите и др. заболеваниях сопровождающихся гипоксическими явлениями [3].

Применение митофена в птицеводстве весьма перспективно благодаря его малой токсичности (LD_{50} при пероральном применении 10 суточным цыплятам составляет 5446 мг/кг массы тела) [16]. Кроме того, было показано, что митофен снижает негативное влияние микотоксинов [167], проявляет защитное действие на организм птицы при вакцинальном стрессе [170].

В настоящее время добавление в корм животным антиоксидантов нашло широкое применение в промышленном животноводстве, звероводстве, свиноводстве и птицеводстве для профилактики отрицательного воздействия на здоровье при создавшихся неблагоприятных условиях содержания (большие физические нагрузки, отсадка молодняка, смена корма, вакцинации, нарушения температурного режима и другие технологические операции, приводящие к стрессу). А также АО можно использовать как лечебно-профилактические средства для животных при любой патологии, сопровождающейся избыточным накоплением свободных радикалов и усилением перекисного окисления липидов.

Естественно, что вышеуказанные свойства и перспективы использования антиоксидантов и, в частности, митофена, определили наш выбор средства для изучения в данной работе.

Фармакологические свойства и механизмы действия митофена

Митофен химически представляющий собой натриевую соль [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] ($\text{NaS}_2 \text{C}_{6n} \text{O}_{2n+3} \text{H}_{4n+1}$) впервые поступил в 1997 г на фармакологический рынок России в виде препарата «олифен». Он состоит из последовательно соединённых между собой структур гидрохинона с длиной цепочки от 2 до 6. Наличие в структуре фрагмента тиосерной кислоты обеспечивает препарату свойство растворимости в воде, а фенольные группировки митофена способствуют эффективному выполнению функции ловушек свободных радикалов.

Важным преимуществом митофена в отличие от большинства других антиоксидантов является его пролонгированное действие. Многие антиоксиданты способны связывать один или два свободных радикала, после чего они превращаются в балластный продукт, который должен быть выведен из организма. Очень важно, что в молекуле митофена по мере взаимодействия с радикалами, гидрохиноидные фрагменты окисляются и превращаются в хиноны. Присутствующий в тканях фермент ДТ-диафораза восстанавливает хиноны до фенолов, обеспечивая регенерацию исходной структуры [125].

Наряду с вышеизложенным, натриевая соль [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] является универсальным антигипоксантом, обеспечивающим защиту тканей вне зависимости от причин, вызывающих гипоксию. Антигипоксический эффект митофена связан как с непосредственным воздействием на дыхательную цепь, способствующим повышению ее работоспособности в условиях гипоксии, так и с восстановлением микроциркуляции в тканях, улучшающей обменные процессы в клетках. Такая возможность объясняется как относительно небольшой массой препарата (около 800 Да), что позволяет ему проходить через поры внутренней мембраны митохондрий, пропускающей молекулы до 1500 Да, так и особой структурой препарата, обеспечивающей возможность переноса одного или двух

электронов. Кроме того, антигипоксическая активность митофена была подтверждена на модели полиморфоядерных лейкоцитов (нейтрофилов), стимулированных форболовыми эфирами. Общеизвестно, что миграция активных клеток в зону воспаления ведет не только к инактивации патогенных микробов, но и к повреждению окружающих тканей. Показано, что по мере увеличения концентрации митофена в суспензии стимулированных форболмеристатацетатом нейтрофилов наблюдаемая люминол зависимая хемилюминесценция прогрессивно снижается, что свидетельствует об эффективном связывании выделяемых клетками свободных радикалов. Проведенные сравнительные испытания митофена с рядом природных антиоксидантов показали, что для снижения хемилюминесценции в два раза требуется до 900 мкг/мл церулоплазмينا – белка плазмы крови, проявляющего антиокислительную активность, около 170 мкг/мл супероксиддисмутазы и только 14 мкг/мл митофена [125].

Стимулирующее повышение коэффициента полезного действия митофена на энергопреобразующие процессы в митохондриях является одним из главных аргументов в пользу его применения для лечения и профилактики различной патологии. В частности, в эксперименте на крысах показано, что профилактическое применение натриевой соли [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] обеспечивает эффективную защиту клеточных мембран всех уровней, способствует восстановлению микроциркуляции в тканях организма, повышает устойчивость клеток к перекисному окислению [124,125].

Обоснование выбора препарата – сочетаемость с другими антиоксидантами

Проведенные ранее лабораторией фармакологии и токсикологии ГНУ ВНИВИП исследования показали, что полифенольные антиоксиданты (в частности, митофен) и производные янтарной кислоты (мексидол) обладают выраженными антигипоксическими свойствами. Они испытаны в общей медицинской практике при лечении ишемических состояний различного

генеза, при обструктивном бронхите и других заболеваниях, сопровождающихся гипоксическими явлениями. Эти свойства АО могут быть полезны и востребованы в промышленном птицеводстве.

В предшествующие годы была изучена острая токсичность натриевой соли [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] (митофен, олифен) и этилметилгидроксипиридин сукцината (мексидол, эмицидин) на куриных эмбрионах и цыплятах до 40-дневного возраста. Отмечено, что они обладают очень низкой токсичностью (4-й класс) [16,175]. Это позволило считать их перспективными для изучения и дальнейшего использования в птицеводстве. Кроме того, при изучении подострой токсичности указанных средств была установлена весьма удовлетворительная переносимость птицей субтоксических доз препаратов (в диапазоне от 500 до 1400 мг/кг живой массы). Проведенные исследования выявили по ряду показателей более высокую эффективность митофена [172,181].

В 2012-2013 гг. были проведены работы, в которых было установлено, что митофен может быть использован в промышленном птицеводстве цыплятам яичного направления в дозах 2,5-10 мг/кг массы тела как высокоэффективный антиоксидант, повышающий продуктивность и улучшающий качество продукции [168].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В РАБОТЕ

Для решения поставленных задач по определению фармакологического действия митофена на организм кур-несушек и цыплят-бройлеров нами было проведено ряд различных опытов *in vitro* и *in vivo*.

Модельные исследования по определению действия митофена на симбионтные микроорганизмы *in vitro* проводили в лаборатории фармакологии и токсикологии Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства (ВНИВИП) (ныне филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения федерального научного центра "Всероссийский научно-исследовательский технологический институт птицеводства" Российской академии наук), в сотрудничестве с ООО «Биоспектр». Исследование влияния митофена на клеточные культуры куриных эмбрионов проводили в отделе вирусологии ВНИВИП.

Опыты по определению фармакологического действия митофена на кур-несушек и цыплят-бройлеров проводили в виварии и лаборатории фармакологии и токсикологии ВНИВИП с использованием общих клинических, фармакологических, гематологических, иммунологических и биохимических методов. Часть опытов проводили в условиях клиники кафедры эпизоотологии, а также кафедры патологической анатомии и гистологии УО «Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины» (УО ВГАВМ).

Опыты, связанные с определением влияния митофена на интенсивность прироста живой массы проводили на цыплятах-бройлерах кросса КОББ 500 вакцинированных на птицефабрике против инфекционного бронхита вирусвакциной против инфекционного бронхита кур из штамма «Н-120»; против Ньюкаслской болезни вирусвакциной против Ньюкаслской болезни из штамма «Ла Сота»; против инфекционной бурсальной болезни вирусвакциной против инфекционной бурсальной болезни Интервет 228-Е (Нобилис Гамборо) согласно инструкции. Определение живой массы цыплят осуществляли путем

взвешивания на лабораторных электронных весах (Весы лабораторные ГОСМЕТР ВЛТЭ-5000 (5 кг. 0.1 гр.)).

Опыты по определению влияния митофена на яичную продуктивность проводили на цыплятах яичного направления с птицефабрики «Роскар». Цыплята в суточном возрасте были вакцинированы против болезни Марека, инфекционного бронхита и инфекционной бурсальной болезни (болезни Гамборо). Кроме того, в ряде опытов часть цыплят была вакцинирована против метапневмовирусной инфекции и Ньюкаслской болезни инактивированной вакциной (масляной) подкожно в обл. средней трети шеи в дозе 0,3 мл.

В ряде опытов осуществляли завоз кур-несушек с птицефабрики «Ударник» Приозерского района Ленинградской области. Куры-несушки кросса хайсекс коричневый были вакцинированы на птицефабрике против инфекционного бронхита вирусвакциной против инфекционного бронхита кур из штамма «Н-120» и «РВ 07»; против Ньюкаслской болезни вирусвакциной против Ньюкаслской болезни из штамма «Ла Сота»; против инфекционной бурсальной болезни и выше указанных болезней вакциной Авикрон 3; против инфекционного ларинготрахеита вирусвакциной против инфекционного ларинготрахеита птиц из штамма «ВНИИБП» и против инфекционного энцефаломиелита согласно инструкции.

Часть экспериментальной работы была выполнена в условиях клиники кафедры эпизоотологии, кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ.

В опытах использовали разные антиоксиданты, препараты и кормовые добавки. Использован митофен производства ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, серия 170703, янтарная кислота (чистая, а также в составе кормовой добавки), и масляный раствор альфа-токоферола ацетата в концентрации 100 мг/мл (ОАО «Марбиофарм»), порошок аптечной аскорбиновой кислоты (Свидетельство о государственной регистрации № RU.77.99.88.009.E002773.02.12 от 03.02.2012). Использовали БИУМ, кормовую смесь, обладающую свойствами пробиотика, иммуномодулятора и пребиотика,

производства ООО «Биоспектр». Условия их применения описаны в соответствующих разделах главы «Результаты исследований и их обсуждение».

Кормление кур-несушек и цыплят-бройлеров во всех опытах осуществлялось согласно общепринятым нормативам. Определение конверсии корма проводилось с учетом всех необходимых показателей (сколько съедено группой, остаток, время поедания и т.д.) по общепринятой методике.

В ходе экспериментов регулярно проводили исследования клинического состояния подопытной и контрольной птицы. Осуществляли регулярное взвешивание (ежедневное до месяца, понедельное, подекадное, ежемесячное) интенсивно растущей птицы, а также перед убоем.

В соответствии с планом того или иного эксперимента проводили клинические, биохимические и иммунологические анализы крови от птицы подопытных и контрольных групп [85,96].

По мере необходимости и при забое цыплят бройлеров проводили патологоанатомические исследования.

По окончании ряда опытов определяли линейные размеры, абсолютную массу и индекс тимуса, бурсы Фабрициуса и селезенки в соответствии с принятыми методиками [26,27,71]. Взвешивание органов проводили на электронных весах “Scout Pro SPU 202” фирмы “Ohaus Corporation” (США).

Количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов крови подсчитывали в счетной камере с сеткой Горяева по методике И.А Болотникова и Ю.В. Соловьева [34] в модификации Громова И.Н. [71]. При этом сначала проводится подсчет эритроцитов в 5 больших квадратах, а затем – подсчет лейкоцитов в 25 или 100 больших квадратах. При этом основным критерием дифференцировки форменных элементов крови является величина, а также форма клеток: овальная у эритроцитов, округлая у лейкоцитов, кеглеобразная или веретенообразная у тромбоцитов. Клетки хорошо визуализируются при использовании объективов x20 (окуляр x15) или x40 (окуляр x10).

Лизоцимную активность плазмы крови изучали по В.Г. Дорофейчуку [72], бактерицидную активность – по О.В. Смирновой и Г.А. Кузьминой в модификации Ю.М. Маркова [1].

Содержание гемоглобина в крови определяли гемоглобинцианидным методом [161].

Определение содержания малонового диальдегида в эритроцитах крови проводили методом основанном на образовании окрашенного комплекса при взаимодействии МДА с тиобарбитуровой кислотой по следующей методике.

Готовили реактивы:

1. Раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ), 170 г/л.
2. Раствор 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК), 8 г/л.
3. Раствор хлорида натрия, изотонический, 0,15 ммоль/л (9 г/л).

Для исследования отбирали 0,1 мл эритроцитов, трижды отмытых охлажденным изотоническим раствором, и гемолизировали внесением в пробирку 2,0 мл дистиллированной воды. К полученному гемолизату добавляли 1,0 мл раствора ТХУ и 1,0 мл раствора ТБК. Пробу прогревали в кипящей водяной бане в течение 10 мин, затем центрифугировали 10 мин на центрифуге типа ОПН-3 при 3000 об/мин.

Интенсивность окраски измеряли при длине волны 540 нм на фотоэлектроколориметре (ФЭК-56М) в кювете с толщиной слоя 1 см.

Для проведения расчетов использовали формулу:

$$\text{МДА} = \frac{A_{оп} \cdot 10^6 \cdot 4 \text{ (мл)}}{1,56 \cdot 10^5 \cdot 0,1 \text{ (мл)}} = A_{оп} \cdot 256,41;$$

где 4 мл – объем водной фазы, 0,1 мл – объем эритроцитарной массы, 10^6 - коэффициент перевода «моль/л» в «мкмоль/л», $1,56 \cdot 10^5$ - коэффициент молярной экстинкции [161].

Уровень неспецифической резистентности организма кур-несушек и цыплят-бройлеров определяли с помощью лизосомально-катионного теста, который основан на способности катионных белков избирательно реагировать с диахромными анионными красителями, такими как, прочный зеленый, бромфеноловый синий. Неферментные катионные белки, которые содержатся в лизосомах (гранулах) нейтрофильных, эозинофильных гранулоцитов, обладают прямым бактерицидным действием, которое обеспечивает нарушение структуры и функции мембран микробной клетки. Лизосомальные катионные белки гранулоцитов крови способны избирательно реагировать с диахромными анионными красителями при значениях рН 8,1-8,2. При указанных значениях рН катионные белки являются единственным биополимером, с которым анионные красители могут взаимодействовать с образованием ионных связей. Такая избирательная способность анионных красителей легла в основу цитохимического метода выявления лизосомальных катионных белков в гранулоцитах птиц для определения уровня естественной резистентности организма [99,149].

Окраска мазков осуществлялась следующим образом. Нефиксированные высушенные на воздухе мазки крови, как правило, окрашивали сразу, поскольку спиртовой раствор прочного зеленого совмещает в себе свойства фиксатора и красителя. В тех случаях, когда окраска проводилась спустя сутки после их приготовления, фиксацию мазков осуществляли в спиртовом растворе формалина (15-20 секунд).

Исследуемые препараты погружали на 15 минут в заранее приготовленный забуференный с рН 8,1-8,2 спиртовой раствор прочного зеленого. Затем быстро споласкивали дистиллированной водой и переносили в 0,25% водный раствор азура А на 15-30 секунд. Краситель смывали дистиллированной водой и мазки высушивали. Окрашенные препараты просматривали в иммерсионной системе микроскопа при 900-кратном увеличении.

Гранулы нейтрофилов и эозинофилов, содержащие катионные белки, и бактерии, подвергшиеся действию катионных белков, окрашены в ярко-зелёный

цвет, а клеточные ядра и жизнеспособные бактерии – в сиреневый и/или синий цвет (рис. 1,2).

Приготовление раствора красителя. Для стабилизации рН раствора прочного зелёного использовали трис-буфер. 0,2 М раствор трис-буфера, готовили путём растворения 24,2 г сухого триса в 1л дистиллированной воды. 10 мл 0,2 М трис-буфера смешивали с 9 мл 0,1 Н HCL и 21 мл метанола, получая метаноловый трис-буфер. Для приготовления забуференного спиртового раствора прочного зелёного с рН 8,1-8,2 100 мг сухого прочного зелёного растворяли в 100 мл метанолового трис-буфера. Так как данный раствор обладает большой стойкостью, в наших исследованиях он длительное время многократно использовался без контроля и выравнивания величины рН. Хранили раствор красителя в стеклянной посуде с притёртой крышкой.

Количественную оценку результатов цитохимического выявления катионных белков в гранулоцитах птиц проводили по методу В. Е. Пигаревского [149]. Данный метод основан на выявлении количественных и качественных сдвигов в гранулоцитах, не определяемых обычными методами морфологического исследования крови. Исследуемые препараты окрашивали спиртовым раствором прочного зелёного при рН 8,1–8,2 (для выявления в гранулоцитах лизосом, содержащих катионные белки).

В норме у взрослых птиц каждый нейтрофильный гранулоцит содержит более 30 лизосомным гранул. Меньшее количество гранул (от 30 до 10, 10 и 0) отражает разную степень дегрануляции нейтрофилов и декатионизации их гранул. Гранулоциты, содержащие от 30 до 10 гранул, считаются частично дегранулированными, а менее 10 – значительно дегранулированными (Рис. 1,2).

При снижении уровня неспецифической резистентности количество катионных белков в гранулоцитах крови уменьшается. Нормализация показателей содержания катионных белков в гранулоцитах крови составляет благоприятный прогностический признак и свидетельствует о повышении уровня неспецифической резистентности организма [149].

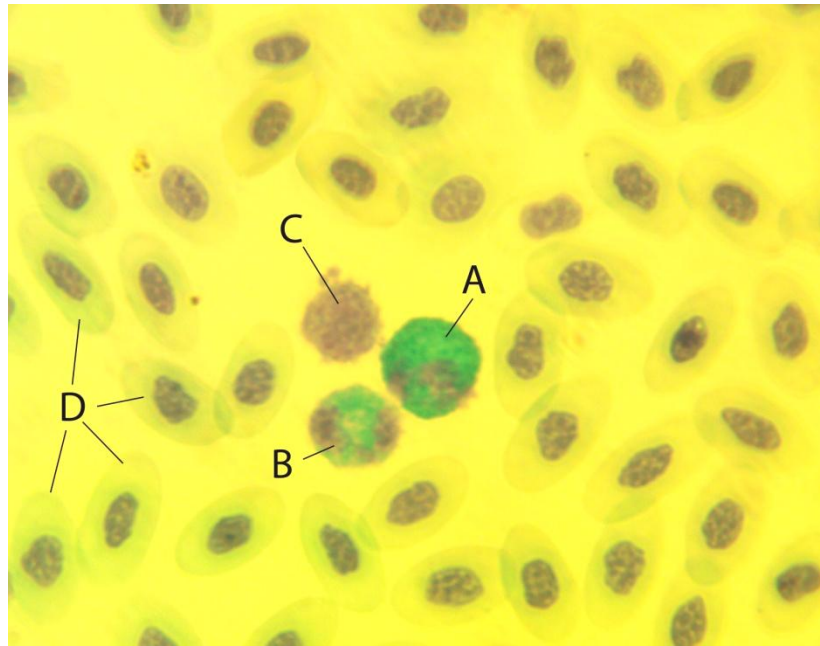


Рис. 1 Гранулоциты: А - содержащий свыше 30 гранул с катионными белками, В - менее 30 - частично дегранулированный, С - не содержащий катионные белки; D - эритроциты. Микрофото. Об. х 100, ок. х 12.



Рис. 2 Значительно дегранулированный гранулоцит (А); эритроциты (В). Микрофото. Об. х 100, ок. х 12.

Определение продуктивных качеств птицы

Живая масса. Живую массу взрослой птицы и молодняка определяли в начале, середине и в конце каждого эксперимента. В ряде опытов определение живой массы цыплят производили чаще, вплоть до ежедневного. Среднюю живую массу одной птицы в группе вычисляли общепринятым методом.

Скорость роста определяли по абсолютной величине прироста за единицу времени.

Абсолютный прирост (V) вычисляют по изменению живой массы птицы за известный период времени по формуле:

$$V = V_2 - V_1$$

Где V_1 – масса в начале учитываемого периода;

V_2 – масса в конце учитываемого периода опыта.

При изучении скорости роста нами соблюдалось ряд правил:

1) Осуществляли содержание птицы в определённых, точно учитываемых условиях;

2) определяли живую массу одного и того же поголовья через известные промежутки времени;

3) определяли живую массу в одно и то же время дня, перед кормлением (для соблюдения условия одинакового наполнения кишечника);

4) Взвешивание производили индивидуально;

Жизнеспособность. Сохранность цыплят и взрослой птицы определяли, учитывая выбраковку, падёж, с обязательным патологоанатомическим исследованием и выяснением причины.

Потребление корма. Определяли путём взвешивания заданного корма и его остатков ежедневно или по три дня подряд в течение всего срока опыта. Затраты корма на единицу прироста массы птицы рассчитывали в конце каждого опытного периода.

Яйценоскость. Учитывали по группам за период опыта в среднем на несушку. Массу яиц определяли путём взвешивания яиц с точностью до 0,1 г в течение всего учитываемого срока опыта.

Основные показатели качества яиц. Качество яиц, от подопытной и контрольной птицы определяли в соответствии со стандартом распространяющимся на пищевые куриные яйца - диетические и столовые, предназначенные для реализации [63].

Исследуемые яйца соответствовали требованиям настоящего стандарта, ветеринарного законодательства и санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам. Несмотря на то, что допускается загрязненные яйца обрабатывать специальными моющими средствами, разрешенными к применению в соответствии с ГОСТом, мы не использовали моющие средства в связи с проведением исследования качества яйца при длительном хранении.

Измерение концентрации водородных ионов позволяющее определить реакцию среды белка и желтка, (рН белка равен в среднем 8,0–8,5, желтка 5,8–6,2,) осуществляли общепринятым потенциометрическим способом по ГОСТ 13496.1-98.

Остальные параметры качества яиц мы исследовали в соответствии с ГОСТом и методическими рекомендациями [63,130,165,176].

Убой птицы проводили общепринятым способом перерезанием кровеносных сосудов шеи (ярёмные вены) с соблюдением соответствующих правил и принципов гуманного отношения к лабораторным животным.

Органолептическую оценку качества мяса птицы проводили общепринятыми методами, позволяющими сравнить влияние на вкусовые качества мяса стандартного рациона и рациона с добавлением митофена и иных кормовых добавок, с учетом соответствующих условий опытов [114,130].

Статистическая обработка всех полученных в опытах цифровых данных осуществлялась по общепринятым методам с использованием программы Microsoft Excel 2003.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Влияние митофена на рост микробной клетки (на примере симбионтной микрофлоры)

Общеизвестно, что существование высших организмов (макроорганизмов) невозможно без постоянного взаимодействия с микроорганизмами, причем многие физиологические процессы у человека, животных и растений неразрывно связаны с соответствующими метаболическими процессами у населяющих их бактерий. Животное-хозяин и его кишечная микрофлора функционируют как комплексная микробиоэкологическая система, в которой микроорганизмы оказывают значительное влияние на организм хозяина. У здорового организма должен соблюдаться определённый видовой баланс микроорганизмов-симбионтов [131,270]. Микроорганизмы, заселяющие кишечник, обладают набором специфических ферментов, позволяющих гидролизировать субстраты, недоступные для расщепления ферментами макроорганизма. В результате жизнедеятельности симбионтной микрофлоры образуются полезные низкомолекулярные вещества, не нуждающиеся в дальнейшем гидролизе и легко используемые макроорганизмом – витамины, аминокислоты, глюкоза, жирные кислоты и другие.

Так как в настоящее время в сельском хозяйстве при производстве животноводческой, птицеводческой и иной продукции животным вводят в корма различные подкормки (премиксы), содержащие множество естественных и синтетических компонентов (органические кислоты, витамины, микро- и макроэлементы, антиоксиданты, стимуляторы роста или иммунной системы и т.д.), становится актуальным понимание того, как эти добавки влияют на симбионтную микрофлору макроорганизма. Учитывая вышесказанное, а также возможность (в зависимости от концентрации) угнетающего и ростостимулирующего воздействия митофена на микробную клетку, нами было проведено изучение фармако-токсикологического влияния антиоксиданта

митофена на рост *in vitro* ряда симбионтных микроорганизмов, которые могут использоваться в кормлении животных и птицы как пробиотики [166].

Чтобы показать, как рассматриваемый нами антиоксидант митофен, влияет на симбионтную микрофлору, в зависимости от его дозы и качественно-количественных характеристик самой микрофлоры, был проведен модельный опыт *in vitro* по определению роста следующих микроорганизмов: *Bifidobacterium bifidum* ВКПМ (ВКПМ - Всероссийская Коллекция Промышленных Микроорганизмов) М-3, *Lactobacterium bulgaricus* ВКПМ К-13, *Lactobacterium acidophilus* ВКПМ К-81, *Lactobacillus fermentum* ВКПМ С-79, *Phallus impudicus* штамм 0781 (Веселка обыкновенная), *Bacillus polymyxa*, *Saccharomyces* spp. Выращивание микрофлоры проводилось с соблюдением принципов биотехнологии выращивания пробиотиков и соответствующих условий [90]. В контрольных пробах выращивания микрофлоры в питательные среды митофен не вводили. В опытные пробы митофен вводили в состав стандартной питательной среды (мясо-пептонный бульон) для выращивания биомассы в концентрациях: 10 мг/л, 20 мг/л и 50 мг/л. Выбор концентрации (дозы) митофена в питательной среде соответствовал предполагаемому допустимому диапазону концентраций митофена при добавлении в корм или питье птице [168].

Количество выросшей биомассы микроорганизмов определяли с помощью камеры Горяева на конечном этапе культивирования. Биомассу веселки обыкновенной промывали и высушивали до остаточной влажности 5 %.

Результаты эксперимента по определению влияния митофена на рост микробной клетки (на примере симбионтной микрофлоры) приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Рост симбионтной микрофлоры в зависимости от концентрации митофена в питательной среде (микробных тел на 1 мл питательной среды)

Микроорганизм	Контроль	Опыт – добавка митофена в концентрации:		
		10 мг/л	20 мг/л	50 мг/л
<i>Bifidobacterium</i>	$0,53 \cdot 10^9$	$0,52 \cdot 10^9$	$0,53 \cdot 10^9$	$0,48 \cdot 10^9$

bifidum (KOE)				
Lactobacterium bulgaricus (KOE)	$0,68 \cdot 10^9$	$0,69 \cdot 10^9$	$0,68 \cdot 10^9$	$0,65 \cdot 10^9$
Lactobacterium acidophilus (KOE)	$0,71 \cdot 10^9$	$0,70 \cdot 10^9$	$0,68 \cdot 10^9$	$0,67 \cdot 10^9$
Lactobacillus fermentum (KOE)	$0,48 \cdot 10^9$	$0,49 \cdot 10^9$	$0,49 \cdot 10^9$	$0,48 \cdot 10^9$
Bacillus polymyxae (KOE)	$0,3 \cdot 10^{11}$	$0,38 \cdot 10^{11}$	$0,41 \cdot 10^{11}$	$0,39 \cdot 10^{11}$
Saccharomyces spp (KOE)	$0,25 \cdot 10^{11}$	$0,23 \cdot 10^{11}$	$0,25 \cdot 10^{11}$	$0,21 \cdot 10^{11}$
Phallus impudicus	22 г/л	28 г/л	27 г/л	25 г/л

Установлено, что введение митофена в питательную среду при проведении данного опыта не вызывает токсических (разрушающих) эффектов по отношению к использованным в опыте культурам симбионтной микрофлоры. Скорее наоборот, в ряде его концентраций можно отметить положительное влияние на рост микроорганизмов. Особенно ярко выражен рост мицелия Веселки обыкновенной (*Phallus impudicus*) с митофеном в концентрации 10 и 20 мг/л среды. Митофен оказал незначительное ингибирующее действие на рост *Bifidobacterium bifidum* в концентрации 50 мг/л среды. Также отмечен значительный рост *Bacillus polymyxae* во всех трех подопытных группах.

Таким образом, учитывая антиоксидантные и другие положительно влияющие на макроорганизм свойства митофена, мы можем его применять в исследованном диапазоне доз при кормлении птицы без ущерба её кишечной симбионтной микрофлоре.

Однако, учитывая значимость симбионтной, пробиотической микрофлоры в процессе формирования естественной резистентности у птиц [230] мы должны понимать, что данные исследования не исчерпывают затронутую тему, а поднимают ряд новых вопросов. В частности, каково действие препарата на более широкий спектр микрофлоры, как в различных дозах митофен будет влиять на патогенные микроорганизмы, а также других возбудителей

паразитарной и иной патологии? Возникает предположение, что используя митофен *per os* в разных концентрациях можно найти пути усовершенствования профилактики и борьбы с инфекциями животных без нарушения целостности биоценоза микроорганизмов кишечной флоры. Поставленные вопросы требуют дальнейшего изучения механизмов влияния антиоксидантов, в частности, митофена, на микробы и соматические клетки макроорганизма.

3.2 Влияние митофена на клетки тканевой культуры (фибробласты)

В свете проведенных исследований влияния митофена на микробные клетки естественны вопросы изучения влияния этого вещества на соматические клетки макроорганизма. Для решения части из них были проведены модельные опыты по испытанию митофена на определение токсических и ростостимулирующих эффектов в культурах клеток куриных и утиных эмбрионов.

В опытах использовали стерильный раствор митофена в разведениях от 10^{-2} до 10^{-7} . Препарат добавляли в клеточную суспензию при посеве в ростовую питательную среду МЕМ (minimal essential medium) в соответствии с общепринятыми методами выращивания культуры клеток [59]. Культуру клеток инкубировали при температуре $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ до проявления токсичности и/или стимулирующего эффекта (48 час инкубации). Контролем служила культура клеток, инкубируемая в аналогичных условиях без добавления митофена (рис. 3). В процессе проведения испытаний установлено, что митофен в разведениях 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} оказывал дегенеративное действие на клетки, что выражалось в округлении клеток, появлении зернистости в цитоплазме и нарушении формирования монослоя клеток.

Митофен в разведении 10^{-5} вызывал менее токсический эффект и в тоже время слабое стимулирующее действие, что выражалось в образовании густых симпластических образований (рис. 4).

Митофен в разведениях 10^{-6} и 10^{-7} вызывал стимулирующее действие на репродукцию клеток и формирование клеточного монослоя по сравнению с контролем, что выражалось в количественном увеличении клеток на 25-30% за одинаковый промежуток времени.

Для подтверждения данного явления, в культуры клеток инокулировали реовирус птиц (культура куриных фибробластов) и вирус гепатита утят (культура утиных фибробластов) с последующим титрованием вирусов в соответствующих культурах клеток.

Установлено, что в культурах клеток, в которых в суспензию добавляли митофен в разведениях 10^{-6} и 10^{-7} (что соответствует терапевтическому и субтерапевтическому диапазону концентраций для макроорганизмов – 1 и 0,1 мг/л) происходило накопление вирусов на 0,5 и 1,0 lg ТЦД₅₀ больше по сравнению с контролем, где препарат отсутствовал.

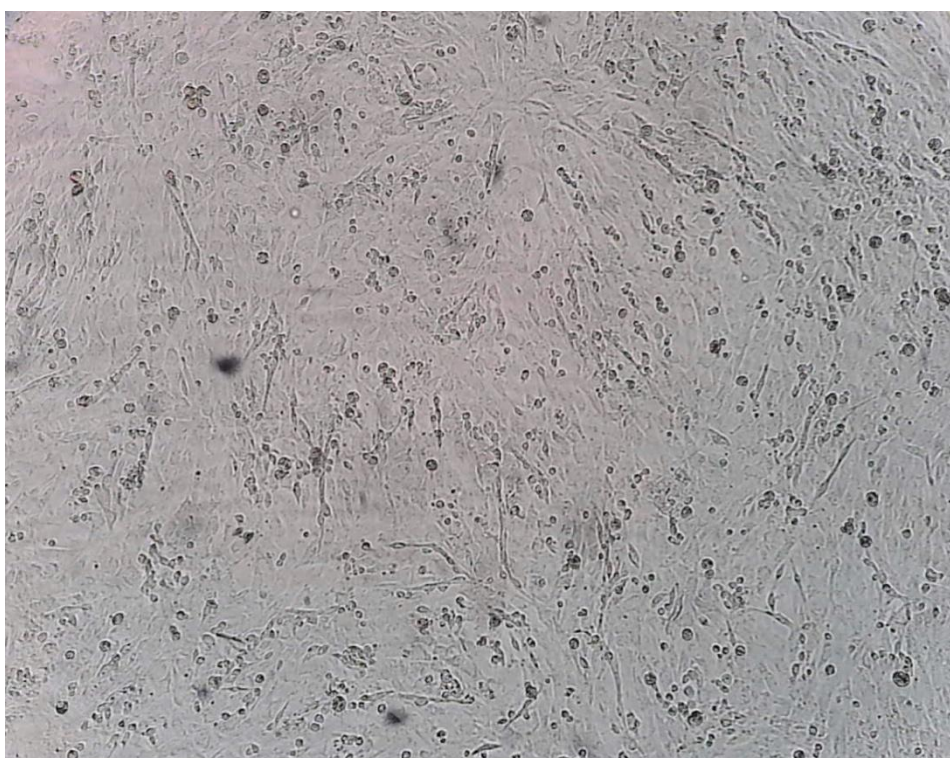


Рис. 3 Культура куриных фибробластов через 48 час инкубации (контроль). Увеличение – объектив x10, окуляр x15.

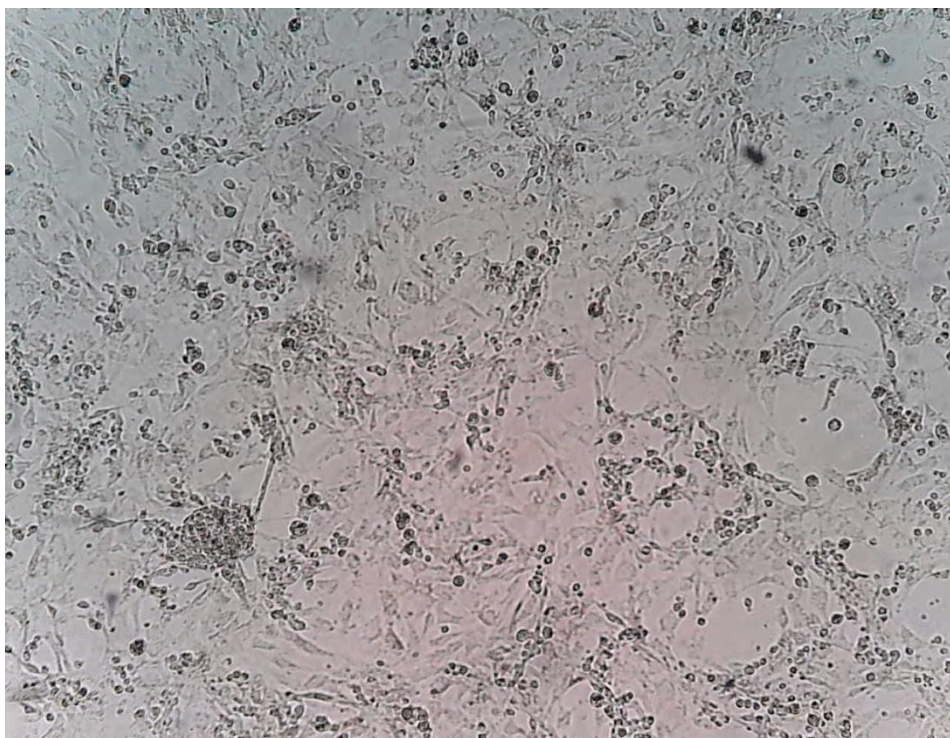


Рис. 4 Культура куриных фибробластов через 48 час инкубации, содержащая митофен в разведении 10^{-5} . Увеличение – объектив x10, окуляр x15.

Естественно, что состояние любой живой клетки, её резистентность существенно зависит, как минимум, от её способности поддерживать весь спектр параметров энергетического баланса внутренней среды: питательные вещества (углеводы, аминокислоты, триглицериды), минералы (преимущественно, ионы и комплексные соединения солей натрия, кальция, калия, магния и другие). Этот минимум взаимобразно обеспечивается способностью клетки осуществлять и регулировать все метаболические реакции, направленные на её существование, рост и размножение. Эффективность метаболических процессов зависит от соблюдения многих условий внутренней и внешней среды. Одним из важнейших интегральных показателей благополучного функционирования клетки является её жизнеспособность, выражающаяся в росте и размножении. В отношении тканевых культур это ещё и способность создавать качественный монослой в соответствующих (содержащих оптимальный состав питательных веществ) средах [59].

Данный опыт наглядно показывает отсутствие негативного эффекта митофена на рост соматических клеток (куриных и утиных фибробластов) в концентрациях, соответствующих диапазону доз (от 0,1 до 10 мг/кг), получаемых птицей при применении исследуемого вещества в кормовых рационах.

3.3 Влияние митофена на интенсивность привесов и антиоксидантный статус цыплят-бройлеров

Так как одним из ведущих параметров эффективности того или иного лекарственного вещества или кормовой добавки при применении продуктивным животным является показатель прироста их живой массы, особенно у молодняка мясных пород, мы в данном опыте фиксировали привесы цыплят за определённый период времени. Для цыплят-бройлеров этот период составил 30 дней. Естественно, что в экспериментах мы осуществляли добавление чистого митофена в рацион при кормлении цыплят, так и некоторые сочетания с другими веществами антиоксидантного действия. Так как наиболее известным природным антиоксидантом является витамин Е, который зачастую считается своеобразным антиоксидантным эталоном в этой группе веществ, мы также использовали его в нашем опыте как препарат сравнения. Дозировка и курс назначения антиоксидантов основывались на общепринятых представлениях о применении кормовых добавок сельскохозяйственным животным, а также на исследованиях применения митофена и других антиоксидантов птице [168,182].

В тоже время, важно учитывать, что в промышленном птицеводстве уже используются различные кормовые комплексы и добавки, многие из которых оказывают выраженное прямое или косвенное действие на антиоксидантную систему организма птицы. Естественно, что, изучение влияния сочетаний антиоксидантных веществ на организм животных, да и человека может оказаться чрезвычайно перспективным фундаментальным направлением

биологической науки. Именно поэтому в этом и ряде следующих опытов мы производили не только сравнение фармакологического действия тех или иных антиоксидантов на организм кур-несушек и цыплят-бройлеров, но и испытывали их сочетания в рационах.

Контролем в наших опытах служили цыплята, получавшие стандартный комбикорм в соответствии с их породными и возрастными особенностями (таблица 2).

Результаты эксперимента по изучению влияния митофена, митофена в сочетании с витамином Е, витамина Е на здоровье и интенсивность привесов цыплят отдельно приведены в таблице 3 и на рис. 5.

Таблица 2 - Схема кормления в опыте определения влияния митофена в сравнении и при совместном применении с витамином Е в терапевтических диапазонах доз на здоровье и интенсивность привесов цыплят

Группа бройлеров	Особенности кормления
До опыта	О с н о в н о й р а ц и о н (ОР)
I подопытная	ОР + митофен 50 мг/кг корма
II подопытная	ОР + митофен 50 мг/кг корма+витамин Е 1мл /кг корма
III подопытная	ОР +витамин Е 1мл /кг корма
IV контрольная	О с н о в н о й р а ц и о н (ОР)

Примечание: Цыплята-бройлеры кросса КОББ 500 с птицефабрики «Ударник» Приозерского района Ленинградской области.

Таблица 3 - Динамика средней живой массы цыплят-бройлеров (в граммах) при совместном скармливании митофена с витамином Е в терапевтических диапазонах доз $n=6$ ($M\pm m$)

Сутки опыта	Возраст, сут.	Группы цыплят, получавших основной рацион +:			
		I группа (митофен)	II группа (митофен + витамин Е)	III группа (витамин Е)	IV Контрольная группа
1	9	138,60±6,28	144,00±6,33	139,25±2,29	142,40±5,29
4	12	165,80±6,43	173,80±7,97	171,00±1,47	171,20±7,46
8	16	220,80±10,21	244,20±8,21*	230,50±8,09	218,40±10,69
11	19	287,80±14,41	313,20±14,35*	299,50±12,18	266,40±11,92
14	22	336,40±15,70	359,80±15,01*	347,50±13,87	312,20±19,10
17	25	398,00±15,07	419,60±18,75	407,00±14,20	364,40±24,44
20	28	532,80±17,51	547,60±24,36	529,25±9,46	484,60±32,23
26	34	852,60±16,58	869,40±38,72	845,00±11,45	801,00±48,61
30	38	1140,20±18,46	1154,00±55,88	1123,50±16,80	1077,20±72,96
Средний предубойный вес, г		1661,80±160,09	1707,80±89,63	1775,25±61,56	1604,20±88,93
Конверсия корма		1,90	1,87	1,79	2,00

*- $P < 0,05$ выведена при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы.

Анализ полученных данных, позволяет отметить тенденцию большего прироста массы у цыплят, получавших кормовые добавки (особенно при использовании витамина Е). Кроме того, с учётом средней затраты корма на период опыта (2925 г на одного цыплёнка) был рассчитан показатель конверсии корма, который был лучше в подопытных группах.

На рисунке 5 заметна стабильная тенденция опережения прироста массы тела у цыплят всех подопытных групп по сравнению с контролем примерно с 8-х дня по 20-е сутки опыта. А далее с увеличением возраста сохраняется синхронность набора массы тела цыплят всех групп.

Таким образом, мы можем наблюдать, что клинический отклик на применение антиоксидантов у цыплят развивается примерно в течение недельного приёма, а в дальнейшем ростовые функции организма поддерживаются на уровне, не выходящем за рамки допустимого физиологического развития.

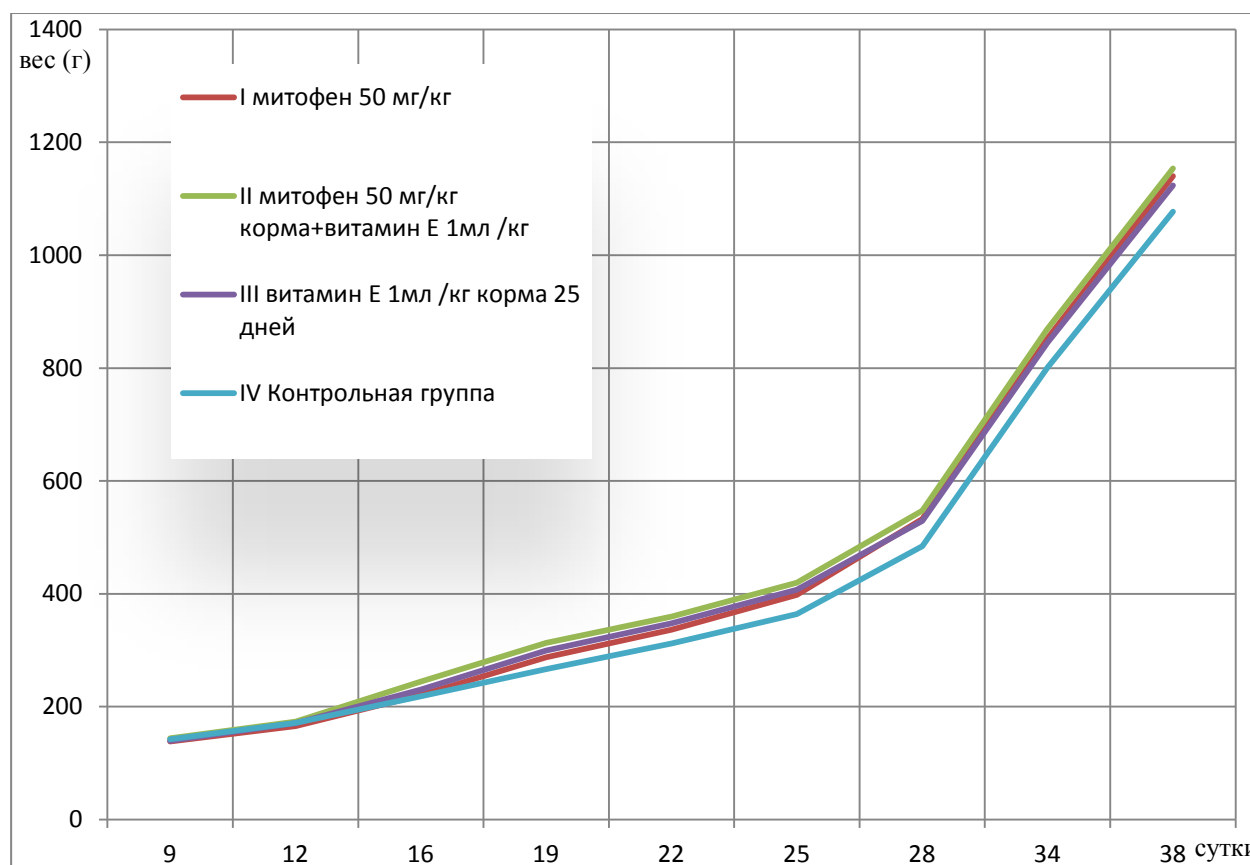


Рис. 5 Динамика прироста массы цыплят-бройлеров при скармливании митофена и витамина Е

Основные параметры мясной продуктивности цыплят-бройлеров при применении антиоксидантов приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Основные параметры мясной продуктивности цыплят-бройлеров при добавке в рацион антиоксидантов n=6 (M±m)

Группа цыплят	Предубойный вес, г	Вес потрошённой тушки, г	Убойный выход, %
I подопытная (митофен)	1661,80±160,09	1015,00±109,49	61,08
II подопытная (мит. + вит. E)	1707,80±89,63	1039,20±48,90	60,85
III подопытная (витамин E)	1775,25±61,56	1093,00±39,96	61,57
IV контрольная	1604,20±88,93	980,80±57,49	61,14

Установлено, что при одинаковом выходе мясной продукции у птицы разных групп сохраняется общая тенденция – более высокий вес потрошеной тушки от цыплят, получавших добавку с антиоксидантами по сравнению с контролем.

В тоже время, ведущим показателем в оценке здоровья птицы являются основные параметры клинического анализа крови. Эти показатели отражены в таблице 5.

Таблица 5 - Основные клинические показатели крови цыплят-бройлеров n=6 (M±m)

Показатель	До опыта	I (митофен)	II (митофен+ витамин E)	III (витамин E)	IV (Контрольная группа)
Гемоглобин, г/л	109,00±7,26	89,38±1,56	89,72±1,61	81,10±4,11	91,23±7,61
Эритроциты, 10 ¹² /л	2,28±0,04	2,36±0,07	2,38±0,11	2,44±0,13	2,25±0,11
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	26,24±2,16	24,70±2,67	20,55±2,91	18,47±1,96	24,98±3,94

Анализ полученных данных показывает, что существенного различия в основных клинических параметрах подопытной и контрольной птицы не отмечено, за исключением заметно более низкого уровня лейкоцитов у цыплят, получавших витамин Е. Это явление невозможно трактовать как однозначное снижение резистентности организма, но оно настораживает и затрудняет оценку целесообразности использования моно добавок витамина Е, что, в перспективе, требует дополнительного изучения.

Одним из главных показателей антиоксидантного действия того или иного вещества является его способность снижать уровень альдегидов в организме, в частности малонового диальдегида (МДА). Этот показатель в целом отражает уровень свободнорадикального окисления в организме и в частности перекисного окисления липидов. Результаты исследования МДА отображены в таблице 6.

Таблица 6 - Содержание малонового диальдегида в крови у цыплят - бройлеров n=6 (M±m)

Группа	Количество МДА (мкмоль/л)	%
До опыта	24,99 ±1,28	-
I подопытная (митофен)	17,10±1,58*	83,74
II подопытная (мит. + вит. Е)	25,67±1,59*	125,71
III подопытная (витамин Е)	23,72±0,83*	116,16
IV контрольная	20,42±0,54	100,00

*- P <0,05 выведен при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Таким образом, скармливание митофена цыплятам приводит к снижению уровня малонового диальдегида в их организме, что согласуется с ранними исследованиями [167,175]. В тоже время отмечается достоверное повышенное содержание малонового диальдегида у цыплят, получавших витамин Е.

Особенно сильное превышение уровня этого показателя наблюдается у птицы, получавшей смесь митофена и витамина Е.

Такой отклик на введение общепризнанного антиоксиданта со стороны ведущего показателя антиоксидантной защиты организма вызывает справедливый вопрос – почему? Разгадка может скрываться в понимании того, что при сочетании разных антиоксидантов, в т.ч. и при избытке ряда антиоксидантов у некоторых из них возможно появление прооксидантной активности [125].

В конечном итоге необходимо принимать во внимание уровень естественной (интегральной, суммарной) антиоксидантной активности организма цыплят, обусловленный их здоровьем и сбалансированностью кормления. Этот уровень достаточно достоверно можно оценить у контрольных цыплят. В частности, условно благополучным состояние антиоксидантной системы организма у цыплят можно считать при содержании в крови МДА в диапазоне 20-30 мкмоль/л, что и показывают нам результаты данного опыта (контроль). Однако даже при таком «благополучном фоне» применение АО способствует повышению продуктивности, а некоторое повышение относительно контроля уровня МДА в крови цыплят, получавших токоферол, не ухудшило клинических показателей здоровья цыплят.

Кроме того, полученные данные подтверждают, что основные фармакологические эффекты митофена – оптимизация тканевого дыхания, уменьшение свободнорадикального окисления, которые приводят к улучшению усвоения корма (уменьшение конверсии корма).

3.4 Влияние митофена и мексидола (производное янтарной кислоты) на резистентность и продуктивность цыплят-бройлеров

Кроме токоферола другим важным «кирпичиком» в антиоксидантной защите организма являются органические кислоты, в метаболическом

понимании входящие в «Цикл Кребса» (цикл лимонной кислоты), который является ведущим биохимическим узлом в организме для получения энергии. Общеизвестно, что в ходе взаимопревращений органических кислот в этом цикле реакций происходит высвобождение свободных протонов, используемых организмом для восстановления кислорода, высвобождается огромное количество энергии, часть из которой запасается в виде аденозинтрифосфата (АТФ).

Так как основной точкой антиоксидантного влияния митофена на метаболизм организма является энергетический обмен [125], то его применение в той или иной мере отражается на интенсивности работы цикла Кребса. В тоже время, сами составляющие этого цикла, основные из которых – цитрат, малат, сукцинат и фумарат, также являются антиоксидантами, влияющими на энергетический обмен живого организма. В связи с этим, конечно же, является актуальным сравнение антиоксидантных эффектов митофена с органическими кислотами. С этой целью препаратом сравнения был выбран мексидол (аналоги: мексидол-вет, эмицидин) – производное янтарной кислоты, как наиболее яркий представитель этой группы антиоксидантов [180].

Опыт был начат на цыплятах-бройлерах суточного возраста. Препараты задавали цыплятам со второго дня внутрь (индивидуально) в виде раствора (1%) (30 суток) соответствующим курсом (таблица 7).

Таблица 7 - Схема кормления в опыте по определению влияния митофена и производного янтарной кислоты (мексидола) в терапевтических диапазонах доз на здоровье и интенсивность прироста массы цыплят

Группа	Особенности кормления
1-я подопытная	ОР + митофен в дозе 20 мг/кг массы
2-я подопытная	ОР + мексидол дозе 10 мг/кг массы
3-я контрольная	О с н о в н о й р а ц и о н (ОР)

Результаты эксперимента по изучению влияния митофена и мексидола на интенсивность привесов цыплят представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Динамика средней живой массы цыплят-бройлеров (в граммах) в опыте определения сравнительной эффективности влияния митофена и мексидола (производное янтарной кислоты) в терапевтическом диапазоне доз $n=6$ ($M \pm m$)

Возраст цыплят, сут.	Группы цыплят, получавших основной рацион +:		
	1 - митофен 20 мг/кг массы	2 - мексидол 10 мг/кг массы	3 Контрольная группа
1	43,65±0,65	43,65±0,65	43,77±1,50
3	55,57±2,09	52,86±2,00	55,21±1,40
9	121,43±4,21	117,50±7,10	116,07±3,89
10	130,00±4,42	123,71±6,59	123,86±4,56
11	145,14±5,01**	139,57±7,24**	113,35±4,71
12	158,00±5,42	148,43±8,55	144,25±10,65
13	179,86±6,40	175,71±10,62	174,25±8,76
14	189,86±6,17	184,00±10,70	183,00±10,75
15	212,14±8,40	213,86±13,14	199,00±9,32
16	218,86±7,39	221,57±12,25	237,00±14,37
17	233,14±8,99	233,00±12,68	211,88±15,49
18	247,29±10,11	247,14±13,89	206,88±22,10
19	309,14±13,27**	305,71±17,82**	226,00±18,00
20	302,25±9,23	330,71±20,72	339,88±20,90
21	367,14±14,20	350,86±19,86	333,00±25,42
22	449,86±15,36*	424,86±23,19	386,86±17,75
23	487,14±16,02	455,71±25,80	441,63±29,23
24	502,00±17,93	467,57±27,83	478,00±32,55

25	605,29±16,31*	530,29±30,26	535,13±35,14
26	688,43±17,34*	589,00±34,11	583,50±38,82
27	761,86±18,50*	652,71±39,50	667,38±42,59
28	811,14±18,70**	737,71±44,12	716,50±48,46
29	911,43±19,02*	818,00±51,77	814,63±49,51
Среднесуточный прирост массы тела, г	29,92	26,70	26,58

*- $P < 0,05$; **- $P < 0,01$ выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы.

В этом опыте с очевидной достоверностью прирост массы цыплят в исследуемый период опережает в группе цыплят, получавших митофен. Это отразилось и на конверсии корма при скармливании митофена и мексидола, в частности, у цыплят, получавших митофен (1,59) она существенно лучше контроля (2,16) и цыплят, которым задавали мексидол (1,78).

Исследование основных гематологических показателей цыплят подопытных и контрольных групп не выявил существенных различий, позволяющих сделать какое-либо достоверное суждение по вопросу влияния испытуемых веществ. И, хотя некоторые показатели лейкоцитарной формулы отличаются в разных группах, можно сделать общий вывод, что применение митофена или мексидола не сказывается отрицательно на состоянии крови и общих показателях резистентности подопытных цыплят (таблица 9).

Таблица 9 - Морфологические показатели крови цыплят-бройлеров после применения митофена и мексидола в течение месяца $n=6$ ($M \pm m$)

Показатели	До опыта	Группы цыплят		
		1 - митофен 20 мг/кг массы	2 - мексидол 10 мг/кг массы	3 Контрольная группа
Эритроциты $10^{12}/л$	2,29±0,25	2,79±0,16*	2,67±0,27	2,28±0,04
Гемоглобин г/л	83,83±3,86	105,69±5,08	117,91±5,19	109,00±7,26

СОЭ мм/час	3,67±1,20	1,83±0,44	2,00±34,18	1,67±0,33
Лейкоциты 10 ⁹ /л	21,81±4,47	35,17±5,62*	31,33±2,71*	23,04±1,72
Базофилы %	0,83±0,31	1,33±0,88	0,33±0,33	0,67±0,67
Эозино- филы %	4,00±0,77	3,67,±0,33	3,67±0,33	3,00±1,15
Псевдоэози- нофилы п/я %	4,50±0,96	5,67±0,88*	4,33±1,45*	9,33±0,88
Псевдоэози- нофилы с/я %	16,50±1,67	17,67±1,20*	15,33±1,45*	22,00±0,58
Лимфо- циты %	70,17±2,10	67,67±1,76*	74,00±0,58**	61,67±1,33
Моно- циты %	4,00±0,36	4,00±1,15	2,33±1,33	3,33±0,88

*- P <0,05; **- P <0,01 выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

В тоже время, биохимическое исследование крови цыплят от подопытных и контрольных групп (табл.10) показало некоторые отличия, которые вписываются в представления о действии антиоксидантов. Так, отмечено достоверное снижение уровня печеночного фермента аланинаминотрансферазы (АЛТ) у подопытной птицы обеих подопытных групп, получавших АО, что свидетельствует о благоприятном воздействии исследуемых препаратов на детоксицирующую функцию печени. Кроме того, митофен, в отличие от мексидола, способствовал достоверному снижению уровня креатинина и мочевой кислоты в крови подопытных цыплят. Эти показатели в целом отражают эндотоксическую нагрузку на организм и, в частности, указывают на оптимальную работу почек.

Таблица 10 - Биохимические показатели крови цыплят-бройлеров после применения митофена и мексидола в течение месяца n=6 (M±m)

Показатели	Группы цыплят		
	1 - митофен 20 мг/кг массы	2 - мексидол 10 мг/кг массы	3 Контрольная группа
Общий белок, г/л	36,23± 3,74	33,53± 4,49	32,80± 2,41
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	3424,33± 151,10	3239,00± 460,26	2315,67± 631,42
АСТ, МЕ/л	200,10± 18,05	170,40± 34,18	202,40± 15,20
АЛТ, МЕ/л	35,93± 3,58*	29,00± 5,69*	49,67± 1,28
Креатинин, мкмоль/л	43,87± 1,07*	56,17± 4,27	56,07± 3,68
Мочевая кислота, ммоль/л	360,97,± 18,82**	674,43± 49,80	565,87± 30,46

*- P <0,05; **- P <0,01 выведены при сравнении показателей опытных и контрольной групп птицы

В этом опыте нами также был проведен и лизосомально-катионный тест по мазкам крови [150] цыплят-бройлеров после применения митофена и мексидола в течение месяца. Несмотря на то, что существенных (достоверных) различий обнаружено не было, наблюдается тенденция более высокого уровня лизосомально-катионных белков у цыплят, получавших антиоксиданты (в среднем 1,01 ЕД) в отличие от цыплят контрольной группы (в среднем 0,87 ЕД).

Таким образом, анализ полученных данных позволяет утверждать, что в исследованном диапазоне доз при данных условиях опыта большую эффективность в плане повышения продуктивности, сохранности здоровья и напряжённости резистентности показывает применение митофена в сравнении с мексидолом. Фармакологическое объяснение этому факту можно найти в разном механизме действия этих веществ. Оба препарата являются антиоксидантами и точки приложения их в метаболизме очень близки – они усиливают работу цикла Кребса, что приводит к усилению энергетического обмена. Однако, если

янтарная кислота и её соли непосредственные участники цикла трикарбоновых кислот и влияют на него фактически своей концентрацией, то убихиноноподобный митофен непосредственно катализирует образование макроэрга АТФ, что более эффективно для клетки с точки зрения запасания энергии, обеспечения работоспособности, жизнеспособности

3.5 Влияние митофена и янтарной кислоты на резистентность и продуктивность цыплят-бройлеров

Несмотря на то, что эффективность мексидола по ряду показателей не превышает эффективность митофена, янтарная кислота и её производные остаются значимыми антиоксидантами, часто используемыми в различного рода кормовых добавках и смесях. Поэтому нам представляется весьма важным рассмотреть возможность совместного применения в рационе цыплят-бройлеров митофена и янтарной кислоты. Результаты представлены в таблицах 12-16.

Опыт был начат на цыплятах-бройлерах 21-суточного возраста и проводился в течении 36-ти суток с применением антиоксидантов определенным курсом (таблица 11).

Таблица 11 - Схема кормления в опыте по определению влияния митофена при совместном применении с янтарной кислотой в терапевтических диапазонах доз на здоровье и интенсивность привесов цыплят

Группа бройлеров	Наименование групп	Особенности кормления
До опыта		О с н о в н о й р а ц и о н (ОР)
I подопытная	I	ОР + митофен 50 мг/кг корма месяц
II подопытная	II	ОР + митофен 50 мг/кг корма+янтарная кислота 105 мг/кг корма
III контрольная	III	О с н о в н о й р а ц и о н (ОР)

Примечание: завоз цыплят-бройлеров 3-х недельного возраста осуществлен с птицефабрики «Ударник» Приозерского района Ленинградской

области. Цыплята-бройлеры кросса КОББ 500 вакцинированы на птицефабрике против инфекционного бронхита вирусвакциной из штамма «Н-120»; против Ньюкаслской болезни вирусвакциной из штамма «Ла Сота»; против инфекционной бурсальной болезни вирусвакциной Интервет 228-Е (Нобилис Гамборо) согласно инструкции.

Таблица 12 - Динамика средней живой массы цыплят-бройлеров (в граммах) при совместном применении митофена с янтарной кислотой в терапевтических диапазонах доз $n=6$ ($M \pm m$)

Сутки опыта	Возраст, сутки	Группы цыплят, получавших основной рацион +:		
		митофен 50 мг/кг корма	митофен 50 мг/кг корма+янтарная кислота 105 мг/кг корма	Контрольная группа
1	21	694,40±45,03	633,40±23,56	634,20±34,12
4	24	855,80±78,85	799,80±30,36	840,20±45,47
7	27	1020,00±85,92	967,40±35,67	1024,60±67,11
10	30	1190,40±84,72	1176,60±40,26	1204,60±89,79
15	35	1449,40±100,91	1422,00±58,35	1478,20±94,59
19	39	1751,60±131,85	1707,20±69,82	1769,40±99,56
23	43	1932,20±166,30	1888,80±93,45	1856,80±102,46
28	48	2321,00±217,35	2292,40±113,18	2220,80±225,42
Среднесуточный прирост, г		60,24	61,44	58,76
36	56	2581,80±177,60	2560,40±117,45	2478,40±284,49
Среднесуточный прирост, г		53,93	55,06	52,69
Конверсия корма		2,17	2,13	2,22

В данном опыте была отмечена тенденция более интенсивного набора массы тела у цыплят, получавших кормовые добавки с антиоксидантами, что согласуется с данными предыдущего опыта. В тоже время, достоверность отмеченных отклонений весьма низкая, что можно объяснить поздним началом скормливания цыплятам антиоксидантов (в 21 суточном возрасте).

Таблица 13 - Параметры мясной продуктивности цыплят-бройлеров при применении митофена с янтарной кислотой в терапевтических диапазонах доз $n=6$ ($M \pm m$)

Группа	Предубойный вес, г	Вес потрошённой тушки, г	Убойный выход, %
I подопытная (митофен)	2581,80±177,60	1758,80±132,61	68,12
II подопытная (мит.+янт.к-та)	2560,40±117,45	1739,60±89,35	67,94
III контрольная	2478,40±284,49	1623,20±202,97	65,49

Как и в предыдущих опытах наблюдаются аналогичные тенденции большего выхода мясной продукции у цыплят, получавших антиоксиданты.

Таблица 14 - Основные гематологические показатели крови цыплят-бройлеров после применения митофена с янтарной кислотой в терапевтических диапазонах доз $n=6$ ($M \pm m$)

Показатели	До опыта	I группа (митофен)	II группа (мит.+янт.к-та)	III группа контрольная
Гемоглобин, г/л	109,00±7,26	134,59±7,64	126,82±11,54	177,95±21,37
Эритроциты, $10^{12}/л$	2,28±0,04	3,12±0,36*	2,65±0,28	2,23±0,18
Лейкоциты, $10^9/л$	26,24±2,16	39,60±3,00	43,10±2,12*	32,25±4,92

*- $P < 0,05$ выведен при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

В данном исследовании отмечено достоверное увеличение (относительно контроля) количества эритроцитов у цыплят, получавших митофен, что согласуется с антигипоксантным действием полифенольных антиоксидантов [125].

Кроме того, обнаружено достоверное увеличение (относительно контроля) количества лейкоцитов у цыплят, получавших митофен с янтарной кислотой, в то время как добавление чистого митофена вызывала незначительное увеличение уровня лейкоцитов в крови. Такое явление может свидетельствовать о мягком стимулирующем действии митофена на клеточный иммунитет, а также о синергичном действии его с янтарной кислотой.

Таблица 15 - Содержание малонового диальдегида в крови у цыплят-бройлеров после курса применения митофена с янтарной кислотой в терапевтических диапазонах доз $n=6$ ($M \pm m$)

Группа	Количество МДА (мкмоль/л)	%
До опыта	24,99 ± 1,28	-
I подопытная (митофен)	27,49 ± 1,20*	113,74
II подопытная (мит. + янт. к-та)	26,41 ± 2,09	109,27
III контрольная	24,17 ± 1,40	100,00

*- $P < 0,05$ выведен при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

В данном опыте содержание малонового диальдегида у цыплят, получавших добавки антиоксидантов достоверно не изменилось и находилось в пределах среднефизиологических величин. Такая стабильность этого показателя также может быть объяснена хорошей сбалансированностью рациона и достаточно хорошим выращиванием цыплят в хозяйстве.

В тоже время отмечены существенная разница в уровне лизосомально-катионных белков в гранулоцитах крови (таблица 16), что в процентном отношении отражено на рис. 6.

Таблица 16 - Значение уровня лизосомально-катионных белков в гранулоцитах крови у цыплят-бройлеров после курса применения митофена с янтарной кислотой в терапевтических диапазонах доз $n=6$ ($M\pm m$)

Группа	Ед
До опыта	1,27±0,08
I подопытная (митофен)	1,78±0,09*
II подопытная (митофен + янтарная кислота)	1,74±0,14*
III контрольная	1,15±0,19

*- $P < 0,05$ выведен при сравнении показателей подопытных (I, II) и контрольной (III) групп птицы

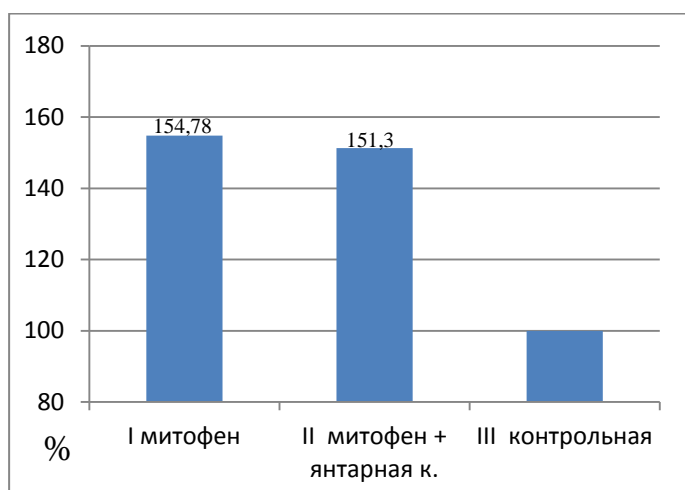


Рис. 6 Уровень лизосомально-катионных белков в гранулоцитах крови у цыплят-бройлеров после курса применения митофена с янтарной кислотой в терапевтических диапазонах доз (в % по отношению к контролю)

Установлено значительное (на 50%) достоверное ($P < 0,01$) превышение лизосомально-катионных белков у цыплят подопытных групп.

В этом опыте также была исследована бактерицидная активность сыворотки крови у цыплят-бройлеров. Отмечено достоверное ($P < 0,01$) повышение бактерицидной активности у цыплят получавших митофен ($30,36\pm 1,03\%$) и меньшее увеличение данного показателя у птицы, получавшей добавку с янтарной кислотой ($14,88\pm 1,57\%$) при показателе у контрольной птицы

(5,93±4,29%). Эти данные также свидетельствуют о повышении резистентности цыплят, получающих добавку антиоксидантов, причем по ряду показателей применение митофена даёт более выраженный эффект, чем применение его с янтарной кислотой. Основные фармакологические эффекты митофена (оптимизация тканевого дыхания, уменьшение свободнорадикального окисления) совпадут с таковыми у янтарной кислоты. Но, так как пути реализации этих эффектов различны, то не отмечается взаимоугнетающего действия препаратов, а в некоторых случаях даже заметно усиление показателей резистентности, таких как повышение количества лейкоцитов в крови в пределах физиологической нормы.

3.6 Влияние митофена на неспецифическую резистентность и привесы цыплят при вакцинации против МПВИ и НБ

Следующим важнейшим вопросом в изучении фармакологического влияния митофена на резистентность организма кур является понимание его влияния на показатели неспецифического иммунитета при проведении профилактических мероприятий, в частности, вакцинации птицы против ряда опасных инфекционных заболеваний. Подобный интерес для промышленного птицеводства актуален применительно ко многим инфекционным заболеваниям [191,207,210,212].

Для изучения данного вопроса поставлен опыт по определению влияния скармливания митофена на здоровье и показатели неспецифического иммунитета цыплят яичного направления начиная с суточного возраста при проведении профилактических мероприятий, в частности, вакцинации против метапневмовирусной инфекции и Ньюкаслской болезни.

Опыт был начат на цыплятах яичного направления с 1-суточного возраста и проводился в течение 60 суток соответствующим курсом (таблица 17).

Таблица 17 - Особенности кормления цыплят в опыте по изучению влияния митофена на привесы и неспецифическую резистентность цыплят при вакцинации против МПВИ и НБ

Группа цыплят	Особенности кормления
До опыта	Основной рацион (ОР)
I подопытная	ОР + митофен 25 мг/кг корма + вакцина МПВИ+НБ
II подопытная	ОР + митофен 50 мг/кг корма + вакцина МПВИ+НБ
III подопытная	ОР + вакцина МПВИ+НБ
IV контрольная	Основной рацион (ОР)

Примечание: завоз цыплят осуществлен с птицефабрики «Роскар». Цыплята в суточном возрасте вакцинированы против болезни Марека, инфекционного бронхита и инфекционной бурсальной болезни (болезни Гамборо). Через 5 дней была проведена вакцинация цыплят I-III групп против метапневмовирусной инфекции и ньюкаслской болезни инактивированной вакциной (масляной) подкожно в обл. средней трети шеи в дозе 0,3 мл. Срок применения митофена - 2 месяца.

Данные по динамике прироста массы цыплят яичного направления при применении и без митофена на фоне иммунизации к МПВИ И НБ приведены в таблице 18.

Таблица 18 - Динамика средней живой массы цыплят яичного направления (в граммах) n=5 (M±m)

Возраст, сут.	Группы цыплят, получавших основной рацион +:			
	I митофен 25 мг/кг корма + вакцина МПВИ+НБ	II митофен 50 мг/кг корма + вакцина МПВИ+НБ	III вакцина МПВИ+НБ	IV контрольная группа
1	36,64±0,87	37,18±0,82	38,73±0,90*	36,73±0,71
2	36,91±0,82	36,91±0,78	37,36±0,77	36,25±0,55
3	38,00±0,99*	38,82±1,12*	38,82±0,77*	36,00±0,44
4	39,55±0,93*	39,91±1,01*	39,00±0,59*	37,17±0,86
5	41,09±1,12	41,64±1,62	40,82±0,71	41,40±0,60
6	48,20±1,44*	50,40±1,54*	45,91±1,47	45,10±0,71
7	53,64±1,50	54,00±1,43	50,91±1,53	51,40±1,10
8	52,64±1,57**	55,10±1,38***	49,73±1,16*	46,1±1,22
9	58,00±1,79*	61,80±1,47***	56,18±1,14	53,70±1,54
10	63,18±1,87	68,40±1,68**	62,36±1,32	60,10±1,71
11	75,73±2,27	81,20±2,47*	76,64±1,29	72,40±2,43
12	74,27±2,31	81,20±2,28	75,27±1,61	76,00±2,44
13	87,27±2,71	92,30±2,40*	89,00±1,79	84,30±2,38
14	90,82±2,80	97,80±2,44**	95,18±2,00*	87,80±2,61
15	103,00±3,02	108,30±2,68**	101,73±2,03	98,20±2,87
17	126,00±3,54	133,20±3,40	128,91±2,51	127,60±3,84
18	136,09±3,67	141,00±3,65*	134,27±2,08	131,90±3,73
19	151,91±3,90	149,90±2,73	149,91±2,47	148,90±4,20
20	158,91±4,31	171,10±3,93**	154,55 ±2,35	150,00±4,60
21	169,80±4,95	179,60±4,21*	166,45±2,28	164,70±5,45

22	172,55±5,01	184,50±4,10**	172,91±2,79	167,40±5,07
23	192,45±5,83	209,20±5,97**	192,60±3,14	183,90±5,48
24	195,36±5,42	204,00±4,49**	190,27±3,24	184,80±5,36
25	208,91±6,17	219,40±5,52*	207,45±3,86	201,90±6,25
26	221,27±6,12	230,50±5,68*	218,18±3,60	214,10±6,49
27	229,00±5,99	237,70±6,14*	218,36±3,50	219,90±6,93
28	230,73±6,58	241,20±6,33*	227,00±3,47	219,90±6,91
29	245,36±6,65*	267,20±6,40***	233,64±4,90	228,20±6,76
Среднесуточный прирост массы тела за первый месяц опыта, г	7,20	7,93	6,72	6,60
35	317,27±9,28	317,00±7,50	318,91±8,61	303,40±7,48
43	360,20±11,80	363,89±10,50	416,20±16,19	389,44±15,64
50	464,90±17,55	496,13±14,72	463,00±19,32	472,71±37,23
57	532,30±24,53	572,50±13,22	547,29±20,90	549,14±35,56
60	662,50±42,70	693,33±26,67	640,00±41,83	613,33±38,44
Среднесуточный прирост массы тела за 2 мес приёма добавки, г	10,43	10,94	10,02	9,61

*- $P < 0,05$; **- $P < 0,01$; ***- $P < 0,001$ выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Для цыплят яичного направления интенсивность набора массы тела не является первостепенным показателем, естественно, при условии их хороших сохранности и здоровья. Тем не менее, регулярный контроль привесов растущего молодняка важен для понимания правильности его физиологического развития. Анализ данной таблицы выявляет определённые различия в интенсивности набора массы тела у вакцинированных цыплят, получавших кормовую добавку с

митофеном в отличие от цыплят контрольной группы. Представляет определённый интерес, что эти различия статистически значимы только в течение первого месяца жизни. В дальнейшем скорость набора массы тела у цыплят яичного направления выравнивается, однако, по средним показателям привесов тенденции сохраняются.

На наш взгляд, важным является, что к концу исследуемого периода:

- средняя масса всех вакцинированных цыплят несколько выше, чем у контрольных, что косвенно может служить доказательством необходимости и безвредности вакцинации.

- средняя масса птицы, получавшей митофен, выше, чем у просто вакцинированной и контрольной птицы.

- средняя масса птицы, получавшей антиоксидант, тем выше, чем больше доза митофена

Таким образом, подтверждается целесообразность применения митофена на начальном этапе выращивания цыплят, особенно в период проведения вакцинаций.

Известно, что большинство наркотиков нейтрализуются (разрушаются) главным образом в печени [20]. Поэтому время выхода из наркоза является своеобразным показателем здоровья, резистентности организма, что позволяет моделировать детоксикационную способность печени [57]. Поэтому нами в рамках этого опыта был проведен тест с наркотизацией птицы с помощью пропофола, результат которого отображен в таблице 19. Пропофол вводился внутривенно струйно в подкрыльцовую вену в дозе 8 мг/кг живого веса цыпленка. Эта доза вызывала наркотный сон. Время выхода цыплят из наркотного сна фиксировалось по подъему головы, открытию глаз и реакции на внешние раздражители.

Таблица 19 - Наркозный тест – время продолжительности прополового наркоза у цыплят $n=5$ ($M\pm m$)

Группы цыплят	Масса тела, г	Время выхода цыплят из наркоза (сек)
I Митофен 25 мг/кг корма + вакцина	662,50±42,70	137,75±25,50
II Митофен 50 мг/кг корма + вакцина	693,33±26,67*	120,00±20,21*
III Вакцина	640,00±41,83	197,50±38,59
IV Контрольная	613,33±38,44	210,00±48,56

*- $P < 0,05$ выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Для наглядности представлен рисунок (рис. 7), отражающий эти данные в процентах (за 100% взято время выхода из наркоза цыплят контрольной группы).

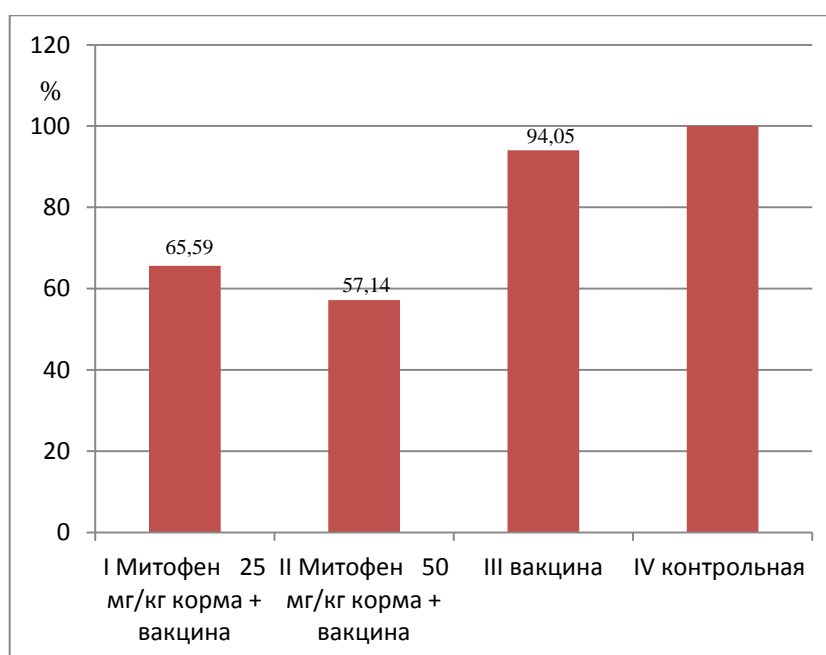


Рис. 7. Скорость выхода цыплят из наркоза (в % по отношению к контролю)

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что назначение митофена в испытанных дозах способствует повышению детоксикационной функции печени на фоне иммунизации к возбудителям МПВИ и НБ. Лучшие

детоксикационные показатели выявлены при применении 50 г/тонну корма, проявляющейся в более быстром выходе птицы из прополового наркоза. Это позволяет предполагать возможность использования исследуемого вещества с целью профилактического и лечебного средства в случаях интоксикации ядами, повреждающими печень, в частности, микотоксинами.

Установлено, что назначение митофена в дозах 25-50 г/тонну корма способствует достоверному повышению уровня гемоглобина и лейкоцитов в крови цыплят (таблица 20) при вакцинации против МПВИ и НБ. Это дает возможность предполагать позитивное действие митофена при патологии кроветворной системы (например, анемия цыплят различного генеза) а также при патологии, сопровождающейся падением иммунитета (вирусная патология).

Таблица 20 - Содержание гемоглобина и лейкоцитов крови цыплят яичного направления n=5 (M±m)

Показатели	До опыта	I митофен 25 мг/кг корма + вакцина МПВИ+НБ	II митофен 50 мг/кг корма + вакцина МПВИ+НБ	III вакцина МПВИ+НБ	IV контрольная группа
Гемоглобин, г/л	101,46±7,95	131,14±8,90**	119,92±4,61**	113,19±3,36**	93,69±3,95
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	20,17±1,76	35,36±4,34*	29,44±3,50	24,97±4,31	22,38±3,96

*- P <0,05; **- P <0,01 выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Анализ лейкоцитарной формулы позволяет утверждать, что как вакцинация цыплят против МПВИ и НБ, так и совместное применение антиоксиданта с соответствующими вакцинами не оказывают отрицательного воздействия на белую кровь подопытных цыплят (таблица 21). Может представлять некоторый интерес тенденция повышения содержания палочкоядерных псевдоэозинофилов у вакцинированных цыплят, что косвенно свидетельствует о иммуномодулирующем эффекте вакцинации. Отмечено, что эта тенденция более

выражена у цыплят, получавших с кормом митофен. Это явление согласуется и с данными лизосомально-катионного теста (таблица 23 и рис. 9), который статистически значимо показывает повышение уровня лизосомально-катионных белков в гранулоцитах крови кур, которой скармливали антиоксидант.

Таблица 21 - Лейкоцитарная формула крови цыплят яичного направления n=5 (M±m)

Показатели	До опыта	I группа Митофен 25 мг/кг корма + вакцина	II группа Митофен 50 мг/кг корма + вакцина	III группа Вакцина	IV группа Контрольн ая группа
Базофилы %	0,4	1,70±0,52	1,57±0,61	1,00±0,53	1,86±0,70
Эозино- филы %	5,80±1,50	9,00±1,64	6,86±1,14*	8,22±1,64	10,00±1,90
Псевдоэо- зинофилы п/я %	6,00±1,26	2,40±0,58	2,29±0,29	1,89±0,59	1,43±0,53
Псевдоэо- зинофилы с/я %	23,20±1,62	17,40±1,35	13,57±1,27	16,33±1,17	14,00±2,26
Лимфо- циты %	60,60±3,28	68,10±2,86	73,43±2,16	70,44±2,08	70,14±3,39
Моно- циты %	4,00±0,89	1,40±0,16	2,29±0,42	2,11±0,51	2,57±1,00

*- P <0,05 выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Отдельный вопрос вызывает также заметное снижение уровня эозинофилов относительно контроля у цыплят, получавших большую дозу митофена. Учитывая, что содержание этих клеток отражает уровень сенсibilизации организма к чужеродным белкам (аллергенам), можно предположить, что у используемого антиоксиданта в определённых дозах может проявляться десенсibilизирующий эффект. Однако, это требует отдельного исследования.

Исследование содержания малонового диальдегида (таблица 22 и рис. 8) в крови у цыплят показало, что назначение цыплятам митофена с кормом, способствует повышению антиоксидантной активности крови (что прямо положительно коррелирует с дозой). Это показывает благоприятное влияние митофена на антиоксидантную систему организма птицы.

Таблица 22 - Содержание малонового диальдегида в крови у цыплят яичного направления n=5 (M±m)

Группа	Количество МДА (мкмоль/л)	%
До опыта	23,72 ±1,53	
I подопытная (митофен 25 мг/кг корма + вакцина)	20,00±0,55*	85,73
II подопытная (митофен 50 мг/кг корма + вакцина)	17,69±0,75**	75,82
III подопытная (вакцина)	24,36±1,28	104,41
IV контрольная	23,33±1,10	100,00

*- P <0,05; **- P <0,01 выведены при сравнении показателей подопытных (I, II) и контрольной групп птицы

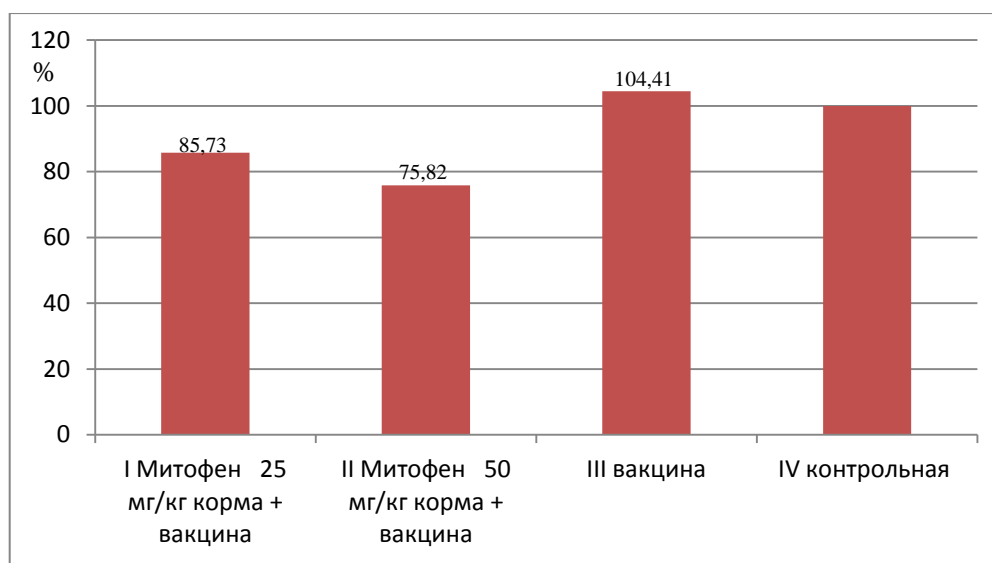


Рис. 8. Содержание малонового диальдегида в крови у цыплят яичного направления (в % относительно контроля)

Таблица 23 - Лизосомально-катионный тест n=5 (M±m)

Группа	Ед	%
I подопытная (митофен 25 мг/кг корма + вакцина)	2,18±0,13*	115,96
II подопытная (митофен 50 мг/кг корма + вакцина)	2,27±0,18*	120,74
III подопытная (вакцина)	1,81±0,31	96,28
IV контрольная	1,88±0,07	100,00

*- $P < 0,05$ выведен при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

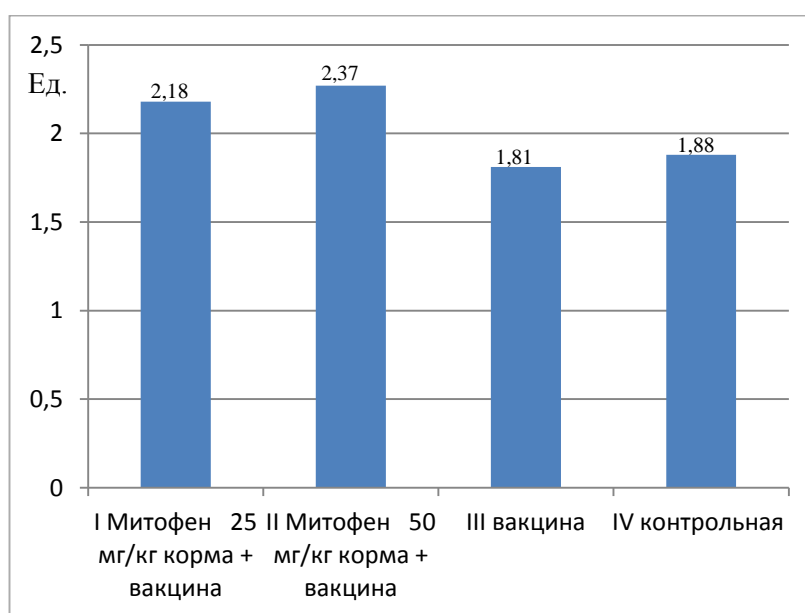


Рис 9. Содержание лизосомально-катионных белков в гранулоцитах

Установлено, что применение митофена в дозе 25-50 г/тонну корма способствует достоверному повышению значения уровня лизосомальных катионных белков в клетках крови кур. Это дает основание утверждать о положительном влиянии митофена на неспецифическую резистентность организма цыплят яичного направления.

Подводя итог по данному опыту, можно с уверенностью констатировать, что при проведении профилактических мероприятий, в частности, вакцинации птицы против метапневмовирусной инфекции и Ньюкаслской болезни, пероральное применение митофена в течение периода интенсивного роста цыплят яичного направления (с суточного, до двухмесячного возраста) приводит к повышению неспецифической резистентности организма цыплят, благоприятно влияет на антиоксидантный статус организма и способствует усилению детоксицирующей функции печени (на основании пропофолового теста). Кроме того, отмечено благоприятное влияние предложенного курса митофена на некоторые гематологические показатели крови. В частности, отмечена тенденция под воздействием антиоксиданта к увеличению содержания гемоглобина и лейкоцитов в физиологически допустимых пределах, что свидетельствует о повышении защитных сил организма цыплят.

Результаты данного опыта можно объяснить фармакологическими эффектами митофена как антигипоксанта – непосредственным воздействием на дыхательную цепь, способствующим повышению ее работоспособности в условиях гипоксии, так и с восстановлением микроциркуляции в тканях, улучшающей обменные процессы в клетках.

3.7 Влияние митофена на цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни

Так как применение митофена цыплятам оказывает положительный эффект на уровень лизосомально-катионных белков в гранулоцитах крови [168,170,178], то представляет интерес и фармакологическое влияние данного препарата на разные показатели иммунитета у цыплят, в частности, на макроморфометрические параметры органов иммунной системы, например, при вакцинации против инфекционной бурсальной болезни птиц (болезнь Гамборо). Это становится особенно важным в свете того, что вирус, вызывающий ИББ, в

том числе и вакцинальный, является возбудителем существенно подавляющим иммунную систему птицы [5,17,70].

Соответствующий опыт проводился по схеме, указанной в таблице 24.

Таблица 24 - Схема опыта по изучению влияния митофена на иммунологические показатели цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни

Группа цыплят n = 24	Особенности кормления и вакцинации
I подопытная	Основной рацион + митофен в дозе 50 мг/кг живой массы + вакцинация против ИББ
II подопытная	Основной рацион + вакцинация против ИББ
III контрольная	Основной рацион

Примечание: Митофен применяли цыплятам первой подопытной группы в период с 8 по 42 сутки жизни. Митофен вводили ежедневно, перорально, с водой. В 15 и 22-дневном возрасте цыплят I и II подопытных групп иммунизировали против ИББ вирус-вакциной из шт. «Винтерфильд 2512» (производство ОАО «Покровский завод биопрепаратов», РФ). Вакцину применяли согласно инструкции по ее применению, перорально, 2-кратно. Перед проведением вакцинации всю птицу 1 и 2 групп выдерживали без дачи питья и корма в течение 6 часов. Поение и кормление птицы возобновляли через 2 часа после иммунизации.

Результаты данного опыта показали, что на 7-е сутки после первой вакцинации абсолютная масса тимуса у птиц 2-ой и 3-й групп составляла соответственно $1,22 \pm 0,22$ г и $1,00 \pm 0,20$ г, а у цыплят 1-й группы, получавших митофен – $2,16 \pm 0,32$ г ($p < 0,05$). Сходные изменения отмечены нами при изучении индекса тимуса (таблица 25). Так, у птиц 2-ой и 3-й групп данный показатель составил соответственно $1,73 \pm 0,33$ и, а у цыплят 1-й группы –

3,34±0,52 (P<0,05). Кроме того, линейные размеры долек тимуса у птиц 1-ой группы достоверно возросли по сравнению с контролем в 1,4-1,6 раза (рис. 10).

Абсолютная масса и индекс фабрициевой бursы у вакцинированных птиц 1-ой группы составили соответственно 1,65±0,16 г и 2,57±0,38 (таблица 25), а у цыплят 2-ой группы - 1,08±0,15 г и 1,54±0,26 (в контроле - 0,97±0,29 г и 2,04±0,53; P<0,05). Аналогичная закономерность была выявлена нами в данном опыте при изучении линейных размеров фабрициевой бursы (рис. 11).

Иммунизация цыплят совместно с применением митофена и без него способствовала также достоверно большему значению линейных размеров селезенки по сравнению с контролем.

Таблица 25 - Макроморфометрические показатели тимуса и бursы Фабрициуса у цыплят 22-х суточного возраста n=5 (M±m)

Группа 22-суточных цыплят (7 сут. после 1-й иммунизации)	Абсолютная масса тимуса (г)	Индекс тимуса (ед.)	Абсолютная масса бursы Фабрициуса (г)	Индекс бursы Фабрициуса (ед.)
1 подопытная (митофен +вакцина)	2,16±0,32*	3,34±0,52*	1,65±0,16	2,57±0,38
2 подопытная (вакцина)	1,22±0,22	1,73±0,33	1,08±0,15	1,54±0,26
3 контрольная (интактная)	1,00±0,20	2,11±0,33	0,97±0,29	2,04±0,53

*- P <0,05 выведен при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

На 7-е сутки после 2-ой иммунизации у птиц 1 и 3 групп различие в абсолютной массе, индексе и линейных размерах тимуса было статистически незначительным. Абсолютная масса и индекс тимуса у вакцинированных цыплят 2-ой группы составили соответственно 2,20±0,19 г и 3,40±0,23, а у интактных птиц 3-й группы - 1,78±0,41 г и 2,16±0,53 (p<0,05). Сходные изменения нами

были отмечены и при изучении линейных размеров тимуса цыплят 1-ой, 2-ой и 3-й групп (таблица 26). Абсолютная масса бursы Фабрициуса у цыплят 1 и 2 подопытных групп составляла соответственно $0,84 \pm 0,07$ г и $0,53 \pm 0,02$ г (против $0,68 \pm 0,10$ г в контрольной группе; $p > 0,05$). Линейные размеры фабрициевой бursы у вакцинированной и интактной птицы изменялись недостоверно. Абсолютная масса и индекс селезенки у цыплят 1 группы составляли соответственно $1,06 \pm 0,17$ г и $1,46 \pm 0,28$, а у птиц 2 группы - $1,68 \pm 0,42$ г и $2,57 \pm 0,58$ (в контроле - $0,88 \pm 0,10$ г и $1,07 \pm 0,12$).

Таблица 26 - Макроморфометрические показатели тимуса, бursы Фабрициуса и селезенки у цыплят 29-ти суточного возраста $n=5$ ($M \pm m$)

Группа 29-суточных цыплят (7 сут. после 2-й иммунизации)	Абсолютная масса тимуса (г)	Индекс тимуса (ед.)	Абсолютная масса бursы Фабрициуса (г)	Абсолютная масса селезенки (г)	Индекс селезенки (ед.)
1 подопытная (митофен + вакцина)	$2,43 \pm 0,21^*$	$3,63 \pm 0,35^*$	$0,84 \pm 0,07^*$	$1,06 \pm 0,17$	$1,46 \pm 0,28$
2 подопытная (вакцина)	$2,20 \pm 0,19$	$3,40 \pm 0,23$	$0,53 \pm 0,02$	$1,68 \pm 0,42$	$2,57 \pm 0,58$
3 контрольная (интактная)	$1,78 \pm 0,41$	$2,16 \pm 0,53$	$0,68 \pm 0,10$	$0,88 \pm 0,10$	$1,07 \pm 0,12$

*- $P < 0,05$ выведен при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

На 14-е сутки после 2-ой иммунизации абсолютная масса тимуса у подопытных цыплят 1-ой и 2-ой групп составляла соответственно $2,12 \pm 0,35$ г и $1,73 \pm 0,38$ г, а у интактных птиц 3-й группы - $1,22 \pm 0,22$ г ($p < 0,05$). Сходные изменения отмечены нами при изучении индекса и линейных размеров данного органа. Органометрические показатели фабрициевой бursы у вакцинированных и интактных цыплят в этот срок исследований изменялись недостоверно. Абсолютная масса и индекс селезенки у подопытных птиц 1-ой группы

составили соответственно $1,26 \pm 0,18$ г и $1,24 \pm 0,17$, а у цыплят 2-ой группы - $1,09 \pm 0,04$ г и $1,24 \pm 0,12$ (в контроле - $1,18 \pm 0,29$ г и $1,47 \pm 0,23$; $p > 0,05$). Аналогичная закономерность была выявлена нами при изучении линейных размеров данного органа.

Таблица 27 - Макроморфометрические показатели тимуса и селезенки у цыплят 36-ти суточного возраста $n=4$ ($M \pm m$)

Группа 36-суточных цыплят (14 сут. после 2-й иммунизации)	Абсолютная масса тимуса (г)	Абсолютная масса селезенки (г)	Индекс селезенки (ед.)
1 подопытная (митофен + вакцина)	$2,12 \pm 0,35^*$	$1,26 \pm 0,18$	$1,24 \pm 0,17$
2 подопытная (вакцина)	$1,73 \pm 0,38$	$1,09 \pm 0,04$	$1,24 \pm 0,12$
3 контрольная (интактная)	$1,22 \pm 0,22$	$1,18 \pm 0,29$	$1,47 \pm 0,23$

*- $P < 0,05$ выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы



Рис. 10 Линейные размеры тимуса цыпленка 1 группы по сравнению с контролем на 7 сутки после 1-ой вакцинации против ИББ



Рис. 11 Линейные размеры фабрициевой бursы у цыпленка 1 группы по сравнению с контролем (3 группа) на 7 сутки после 1-ой вакцинации против ИББ

Результаты данного исследования также показали, что иммунизация цыплят против ИББ на фоне применения митофена и без него инициирует развитие лейкоцитоза, что частично согласуется с предыдущими опытами. В частности, на 7-е сутки после первой вакцинации количество лейкоцитов в крови цыплят 1-ой и 2-ой подопытных групп составило соответственно $17,50 \pm 2,05 \cdot 10^9/\text{л}$ и $24,5 \pm 2,17 \cdot 10^9/\text{л}$ (таблица 28), в то время как у цыплят контрольной группы – $13,5 \pm 1,69 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Число тромбоцитов в крови вакцинированных птиц обеих подопытных групп также увеличивалось в сравнении с контролем ($62,00 \pm 15,60 - 67,00 \pm 7,30 \cdot 10^9/\text{л}$ против $48,50 \pm 11,74 \cdot 10^9/\text{л}$), однако эти различия не были статистически значимыми.

Количество эритроцитов в крови птиц подопытных и контрольной групп было примерно одинаковым ($2,32 \pm 0,36 - 3,11 \pm 0,66 \cdot 10^{12}/\text{л}$). В тоже время содержание гемоглобина в крови цыплят 1-ой и 2-ой групп составило соответственно $67,99 \pm 9,64$ г/л и $76,92 \pm 6,79$ г/л, а у птиц контрольной группы – $94,26 \pm 10,39$ г/л ($p < 0,05$).

Разнонаправленные изменения были отмечены нами при исследовании показателей неспецифической иммунной реактивности. Так, лизоцимная активность плазмы крови цыплят 1-ой группы составляла $3,45 \pm 0,56\%$, а у птиц 2-

ой и 3-ей групп - соответственно $2,5 \pm 0,28\%$ ($P < 0,05$) и $3,07 \pm 0,84\%$ ($P > 0,05$). Бактерицидная активность плазмы крови цыплят 1-ой, 2-ой и 3-й групп находилась в диапазоне от $68,60 \pm 4,80$ до $72,50 \pm 1,40\%$.

Таблица 28 - Некоторые гематологические показатели цыплят 22-х суточного возраста $n=5$ ($M \pm m$)

Группа 22-суточных цыплят (7 сут. после 1-й иммунизации)	Лейкоциты $10^9/\text{л}$	Тромбоциты $10^9/\text{л}$	Гемоглобин г/л	Лизоцимная активность %
1 подопытная (митофен +вакцина)	$17,50 \pm 2,05$	$62,00 \pm 15,60$	$67,99 \pm 9,64$	$3,45 \pm 0,56$
2 подопытная (вакцина)	$24,5 \pm 2,17^*$	$67,00 \pm 7,30^*$	$76,92 \pm 6,79$	$2,5 \pm 0,28$
3 контрольная (интактная)	$13,5 \pm 1,69$	$48,50 \pm 11,74$	$94,26 \pm 10,39$	$3,07 \pm 0,84$

*- $P < 0,05$ выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

На 7-е сутки после второй иммунизации число лейкоцитов в крови вакцинированных цыплят продолжало оставаться высоким. Так, у птиц 1-ой и 2-ой групп данный показатель составил соответственно $22,5 \pm 1,68 \cdot 10^9/\text{л}$ и $25,0 \pm 1,12 \cdot 10^9/\text{л}$, а в контроле – $15,0 \pm 0,56 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$) (таблица 29). Содержание тромбоцитов в крови цыплят 1-ой, 2-ой и 3-й групп незначительно снизилось по сравнению с исходными данными и составило соответственно $29,5 \pm 3,37 \cdot 10^9/\text{л}$, $34,5 \pm 6,17 \cdot 10^9/\text{л}$ и $36,0 \pm 4,49 \cdot 10^9/\text{л}$.

Уровень эритроцитов в крови цыплят всех групп уменьшился в сравнении с первыми полученными результатами данных исследований (до $1,83 \pm 0,44 - 2,01 \pm 0,23 \cdot 10^{12}/\text{л}$). В тоже время, содержание гемоглобина в крови цыплят 1-ой группы существенно не изменилось по сравнению с исходными данными ($67,96 \pm 7,93$ г/л), а у птиц 2-ой и 3-ей групп - снизилось до уровня $69,72 \pm 6,79 - 65,99 \pm 9,49$ г/л.

Лизоцимная активность плазмы крови цыплят 1-ой группы, как и в предыдущие сроки исследований, была также значительно выше, чем у птиц 2-ой и 3-ей групп ($4,22 \pm 0,50\%$ против $3,95 \pm 0,58\%$ и $2,95 \pm 0,39\%$; $P < 0,05$).

Таблица 29 - Некоторые гематологические показатели крови цыплят 29-ти суточного возраста $n=5$ ($M \pm m$)

Группа 29-суточных цыплят (7 сут. после 2-й иммунизации)	Лейкоциты $10^9/\text{л}$	Тромбоциты $10^9/\text{л}$	Гемоглобин г/л	Лизоцимная активность %
1 подопытная (митофен +вакцина)	$22,5 \pm 1,68^{**}$	$29,5 \pm 3,37$	$67,96 \pm 7,93$	$4,22 \pm 0,50^*$
2 подопытная (вакцина)	$25,0 \pm 1,12^{**}$	$34,5 \pm 6,17$	$69,72 \pm 6,79$	$3,95 \pm 0,58$
3 контрольная (интактная)	$15,0 \pm 0,56$	$36,0 \pm 4,49$	$65,99 \pm 9,49$	$2,95 \pm 0,39$

*- $P < 0,05$; **- $P < 0,01$ выведены при сравнении показателей опытных и контрольной групп птицы

На 14-е сутки после второй вакцинации содержание лейкоцитов в крови птиц подопытных и контрольной групп было примерно одинаковым и находилось в пределах $20,75 \pm 4,49 - 24,5 \pm 5,05 \cdot 10^9/\text{л}$ (таблица 30). Количество тромбоцитов в крови цыплят 1, 2 и 3 групп существенно увеличилось в сравнении с результатами предыдущих исследований и составило соответственно $73,0 \pm 24,15 \cdot 10^9/\text{л}$, $41,0 \pm 2,24 \cdot 10^9/\text{л}$ и $79,5 \pm 11,79 \cdot 10^9/\text{л}$.

Число эритроцитов в крови цыплят всех групп также увеличилось по сравнению с исходными данными и находилось в пределах $1,76 \pm 0,06 - 2,50 \pm 0,30 \times 10^{12}/\text{л}$. Аналогичная закономерность была выявлена нами при изучении концентрации гемоглобина в крови. У цыплят контрольной группы данный показатель составил $67,77 \pm 6,05$ г/л, а у птиц подопытных групп варьировал в пределах $69,99 \pm 8,29 - 76,04 \pm 7,63$ г/л.

Лизоцимная активность плазмы крови у цыплят всех групп (подопытных и контрольной) значительно возросла по сравнению с предыдущим сроком исследований ($P < 0,05$). При этом у цыплят 1-ой группы она снова оказалась значительно выше аналогичного показателя у птиц 2-ой и 3-ей групп ($8,45 \pm 0,78\%$ против $7,62 \pm 0,84\%$ и $5,67 \pm 1,54\%$).

Бактерицидная активность плазмы крови цыплят всех групп достоверно не различалась. Так, у вакцинированных птиц 1-ой и 2-ой групп данный показатель составил соответственно $63,70 \pm 14,70\%$ и $57,20 \pm 7,11\%$, а у интактных цыплят контрольной группы - $45,40 \pm 12,60\%$.

Таблица 30 - Некоторые гематологические показатели крови цыплят 36-ти суточного возраста $n=4$ ($M \pm m$)

Группа 36-суточных цыплят (14 дн. после 2-й иммунизации)	Лейкоциты $10^9/\text{л}$	Тромбоциты $10^9/\text{л}$	Гемоглобин г/л	Лизоцимная активность %
1 подопытная (митофен +вакцина)	$23,9 \pm 4,87$	$73,0 \pm 24,15$	$76,04 \pm 7,63$	$8,45 \pm 0,78^*$
2 подопытная (вакцина)	$24,5 \pm 5,05$	$41,0 \pm 2,24^*$	$69,99 \pm 8,29$	$7,62 \pm 0,84$
3 контрольная (интактная)	$20,75 \pm 4,49$	$79,5 \pm 11,79$	$67,77 \pm 6,05$	$5,67 \pm 1,54$

*- $P < 0,05$ выведен при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Полученные данные показывают, что колебания органомерических показателей выявляются в течение длительного промежутка времени после вакцинации. При иммунизации цыплят на фоне применения митофена в тимусе и фабрициевой бурсе развиваются более выраженные морфологические изменения, по сравнению с применением одной вакцины.

Кроме того, полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что пероральная иммунизация цыплят против ИБВ вирус-вакциной из шт.

«Винтерфильд 2512» на фоне и без применения антиоксидантного препарата митофена вызывает достоверное увеличение в крови птиц числа лейкоцитов, не оказывая при этом существенного влияния на содержание других форменных элементов и показатели бактерицидной активности плазмы крови.

В то же время иммунизация цыплят совместно с митофеном приводит к достоверному повышению лизоцимной активности плазмы крови, по сравнению с использованием одной вакцины.

В заключение данного опыта можно отметить, что при иммунизации цыплят сухой живой вирус-вакциной против ИББ из штамма «Винтерфильд 2512» в органах их иммунной системы развиваются структурные изменения, свидетельствующие о формировании иммунитета против данной болезни. Однако, колебания органомерических показателей выявляются в течение длительного промежутка времени, что, вероятнее всего, связано с длительной циркуляцией вакцинного штамма вируса в организме птиц. При иммунизации цыплят на фоне применения митофена в тимусе и фабрициевой бурсе развиваются более выраженные морфологические изменения, чем с применением одной вакцины. Это прямо или косвенно отражает способность митофена положительно влиять на формирование неспецифической резистентности подопытной птицы [86].

Подтверждением может служить и тот факт, что данная иммунизация цыплят на фоне и без применения митофена вызывает существенное увеличение в крови птиц числа лейкоцитов, не оказывая при этом статистически значимого влияния на содержание других форменных элементов и показатели бактерицидной активности плазмы крови. В то же время, применение митофена при иммунизации птиц приводит к достоверному повышению лизоцимной активности плазмы крови, по сравнению с использованием одной вакцины [64].

Таким образом, выявлено положительное влияние митофена на резистентность организма птицы в условиях проведения плановых противоэпизоотических мероприятий.

3.8 Влияние митофена, янтарной кислоты и пробиотика на здоровье и яичную продуктивность кур-несушек

Чрезвычайно важными показателями, прямо или косвенно отражающими резистентность организма продуктивной птицы, в промышленном птицеводстве, помимо состояния здоровья и сохранности поголовья, являются качественно-количественные параметры получаемой продукции, в частности, яйценоскость и качество яиц, в том числе и при хранении. Так как в доступной литературе имеются сведения о положительном влиянии некоторых антиоксидантов и пробиотиков на качество продукции птицеводства [127,230] целью данного опыта стало изучение влияния скармливания курам-несушкам антиоксиданта митофена на некоторые физические параметры яйца при его длительном хранении. В качестве альтернативы для сравнения были исследованы варианты применения в рационе смеси митофена с янтарной кислотой, а также янтарной кислоты с пробиотиком Биум (таблица 31).

Таблица 31 - Схема кормления в опыте определения влияния митофена и янтарной кислоты (в терапевтических диапазонах доз) на здоровье и яйценоскость кур несушек

Группа кур-несушек	Особенности кормления
До опыта	О с н о в н о й р а ц и о н (ОР)
I подопытная	ОР + митофен 50 мг/кг корма (3 мес)
II подопытная	ОР + митофен 50 мг/кг корма+ янтарная кислота 105 мг/кг корма (3 мес)
III подопытная	ОР + Биум 50 мг/кг корма+ янтарная кислота 105 мг/кг корма (3 мес)
IV контрольная	О с н о в н о й р а ц и о н (ОР)

Примечание: завоз кур-несушек 120-суточного возраста осуществлен с птицефабрики «Ударник» Приозерского района Ленинградской области. Куры-несушки кросса хайсекс коричневый вакцинированы на птицефабрике против

инфекционного бронхита вирусвакциной из штамма «Н-120» и «РВ 07»; против Ньюкаслской болезни вирусвакциной из штамма «Ла Сота»; против инфекционной бурсальной болезни и выше указанных болезней вакциной Авикрон 3; против инфекционного ларинготрахеита вирусвакциной из штамма «ВНИИБП» и против инфекционного энцефаломиелита согласно соответствующих инструкций.

Птица всех групп находилась под постоянным контролем. Ежедневно определяли общее состояние здоровья. По окончании курса применения (3 месяца) препаратов у птицы брали кровь из подключичной вены.

По завершению опыта от птицы отбиралось яйцо (по 30 шт. от каждой группы) для определения качества сразу и после 5 месяцев хранения. Такой срок был выбран не случайно, так как обозначенное соответствующим ГОСТом [63] время хранения столового яйца в 90 суток при температуре от минус 2°C до 0°C не приводит к значимым структурным изменениям яйца, а увеличение срока хранения позволило нам отметить с большей достоверностью разность качественных показателей яйца.

Динамика яйценоскости и параметры массы яйца кур в опыте по определению влияния митофена, митофена с янтарной кислотой, янтарной кислоты с Биумом на яичную продуктивность кур отображены в таблицах 32 и 33.

Таблица 32 - Определение яйценоскости от кур-несушек в возрасте 150-210 дней n=5 (M±m)

Группа	Штук	%
Количество яиц на 1 голову курицы в возрасте 151-180 дн.		
I подопытная (митофен)	15,25	69,32
II подопытная (мит. + янт. к-та)	24,3	110,4
III подопытная (Биум + янт. к-та)	17,0	77,3
IV контрольная	22,0	100
Количество яиц на 1 голову курицы в возрасте 181-210 дн.		
I подопытная (митофен)	19,5	101,3

II подопытная (мит. + янт. к-та)	25,34	131,6
III подопытная (Биум + янт. к-та)	17,0	88,3
IV контрольная	19,25	100
итого		
I подопытная (митофен)	34,75	84,2
II подопытная (мит. + янт. к-та)	49,64	120,3
III подопытная (Биум + янт. к-та)	34,0	82,3
IV контрольная	41,25	100

Таблица 33 - Масса яиц от кур-несушек в возрасте 150-210 дней

Группа	Декады		
	1	2	3
I подопытная (митофен)	67,13±2,81	64,76±0,76	64,30±1,17
II подопытная (мит. + янт. к-та)	66,81±0,74**	66,70±0,53	63,75±0,90
III подопытная (Биум + янт. к-та)	68,68±0,97**	68,00±0,97*	66,43±0,68
IV контрольная	62,44±0,81	64,66±1,43	65,00±1,11
	Декады		
	4	5	9
I подопытная (митофен)	67,15±0,77**	66,65±0,98**	69,23±0,81**
II подопытная (мит. + янт. к-та)	67,00±0,58**	66,00±0,68**	67,04,±0,64**
III подопытная (Биум + янт. к-та)	65,52±0,52**	66,38±0,43**	66,69±0,46**
IV контрольная	61,96±0,76	62,00±0,63	61,96±0,87

*- $P < 0,05$; **- $P < 0,001$ выведены при сравнении показателей подопытных групп с контрольной (IV) группой птицы

Установлена заметная тенденция улучшения продуктивности у кур, получавших с кормом сочетание митофена и янтарной кислоты. Достоверное увеличение массы яйца наблюдается на второй месяц скармливания антиоксидантов во всех подопытных группах кур. Таким образом, можно утверждать, что применение антиоксидантов, в частности, митофена, способствует улучшению обменных процессов в организме птицы и улучшению её продуктивности.

Гематологические данные подтверждают результаты предыдущих опытов, что применение антиоксидантов способствует повышению неспецифической резистентности организма кур, что выражается в достоверном повышении количества лейкоцитов (таблица 34).

Таблица 34 - Морфологические показатели крови кур-несушек n=5 (M±m)

Показатели	До опыта	I группа (митофен)	II группа (мит. + янт. к-та)	III группа (Биум + янт. к-та)	IV группа контрольная
Гемоглобин, г/л	83,83± 3,86	78,73± 7,12	71,90± 5,75	63,63± 4,08	77,65± 8,07
Эритроциты, 10 ¹² /л	2,20± 0,07	2,48± 0,17	2,30± 0,05	2,43± 0,13	2,15± 0,08
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	26,94 ±1,37	35,61± 6,91*	38,85± 3,08*	37,88± 8,84*	23,28± 0,59

*- P <0,05 выведены при сравнении показателей от птицы опытных и контрольной групп

Влияние скармливания курам-несушкам добавок с антиоксидантами на содержание малонового диальдегида в крови (таблица 35) в данном опыте в целом оказалось ожидаемым и соответствовало предыдущим исследованиям [172,181,182]. На наш взгляд, существенный интерес может представлять эффект значительного снижения изучаемого показателя в группе кур, которым

одновременно скармливали митофен и янтарную кислоту, так как это указывает на возможный синергизм в действии этих веществ.

Таблица 35 - Содержание малонового диальдегида в крови у кур-несушек n=5 (M±m)

Группа	Количество МДА (мкмоль/л)	%
До опыта	22,86±1,80	99,0
I подопытная (митофен)	20,09±1,54	87,0
II подопытная (мит. + янт. к-та)	14,96±2,82*	64,8
III подопытная (Биум + янт. к-та)	21,41±0,70	92,8
IV контрольная	23,08±0,64	100,00

*- P <0,05 выведены при сравнении показателей опытных и контрольной групп птицы

Результаты лизосомально-катионного теста в эксперименте по определению влияния митофена, митофена с янтарной кислотой, янтарной кислоты с Биумом на яичную продуктивность кур приведены в таблице 36.

Таблица 36 - Лизосомально-катионный тест у кур-несушек n=5 (M±m)

Группа	Ед	%
До опыта	1,33±0,06	-
I подопытная (митофен)	1,97±0,06*	139,72
II подопытная (мит. + янт. к-та)	2,17±0,16*	153,90
III подопытная (Биум + янт. к-та)	2,02±0,09**	143,26
IV контрольная	1,41±0,15	100,00

*- P<0,05; **- P<0,01 выведены при сравнении показателей опытных (I, II, III) и контрольной (IV) групп птицы

Неспецифическая резистентность кур в данном опыте также положительно отреагировала на применение антиоксидантов. Анализ данных показывает значительное повышение уровня лизосомальных катионных белков в гранулоцитах подопытных кур в среднем на 40-50% относительно птиц контрольной группы. В ряду же подопытных групп кур различия по данному показателю статистически незначимы.

Данный опыт показал, что применение митофена или янтарной кислоты в сочетании с Биумом не выявляет существенной разницы по яйценоскости кур-несушек в период эксперимента, однако, сочетание митофена с янтарной кислотой дало значительный прирост к яичной продуктивности относительно контроля (более 15%) и остальных подопытных групп. Это указывает на синергетический эффект сочетания двух антиоксидантов. Схожая тенденция отмечена при определении МДА в крови подопытных кур-несушек, так в группе получавшей митофен с янтарной кислотой количество МДА было ниже, чем в группах с митофеном и янтарной кислоты с БиУМом на 25 %, а по отношению к контролю более чем на 30%.

3.9 Исследование качества яиц перед и после длительного хранения

Физические показатели качества яйца в эксперименте по определению влияния митофена, митофена с янтарной кислотой, янтарной кислоты с БиУМом на яичную продуктивность кур приведены в таблице 37.

Таблица 37 - Некоторые физические показатели качества яйца n=10 (M±m)

Показатели	I группа (митофен)	II группа (мит. + янт. к-та)	III группа (Биум + янт. к-та)	IV группа контрольная
Масса яйца, г	63,60±1,95	67,39±0,58***	65,71±0,77**	62,78±0,85
Объем яйца, см ³	58,07±1,78	61,53±0,53***	60,00±0,70**	57,32±0,77
Индекс формы, %	83,13±1,12	80,31±0,79	80,66±0,38	81,57±0,48

Диаметр воздушной камеры, см	1,72±0,38	1,41±0,38	0,70±0,35	1,22±0,26
Высота воздушной камеры, см	0,36±0,09	0,28±0,08	0,14±0,07	0,24±0,05
Плотность яйца, г/см ³	1,095	1,095	1,095	1,095
Количество пор в скорлупе, шт ×10000	7,52±0,64*	7,58±0,37**	6,18±0,38	5,81±0,38
Толщина скорлупы, мм	0,46±0,01	0,46±0,01	0,47±0,01	0,46±0,01
Масса скорлупы относительная, %	12,74±0,35	12,51±0,32	12,74±0,35	13,27±0,32
Отношение массы белка к массе желтка	2,63±0,15*	2,22±0,11	2,58±0,44	2,24±0,10
Масса белка относительная, %	61,20±1,59*	58,60±1,30	58,22±1,01	57,63±0,68
Масса желтка относительная, %	23,62±0,74**	26,71±0,85	27,01±0,98	26,86±0,71
Индекс белка, %	5,96±0,28	5,62±0,26	5,84±0,25	5,88±0,22
Индекс желтка, %	30,84±5,56	27,20±6,35	22,59±5,90	28,21±5,16
pH белка, ед	8,92±0,07**	9,18±0,28	8,79±0,04***	9,17±0,02
pH желтка, ед	6,41±0,07*	6,78±0,31	5,86±0,04***	6,71±0,13

*- $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ и *** - $P < 0,001$ выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной (IV) групп птицы

Через пять месяцев хранения в бытовом холодильнике при температуре $+3^{\circ}\pm 1^{\circ}$ было отмечено изменение массы яйца, что отражено в таблице 38.

Таблица 38 - Изменение массы яйца при длительном хранении $n=10$ ($M\pm m$)

Показатели	I группа (митофен)	II группа (мит. + янт. к-та)	III группа (Биум + янт. к-та)	IV группа контрольная
Масса яйца, г в	67,05± 1,71*	67,46±0,67**	65,18±1,80	62,89±1,17

момент закладки на хранение (m1)				
Масса яйца, г через 5 месяцев от начала хранения (m2)	59,28±2,33	59,53±1,00*	57,94±2,15	56,53±0,97
m1 – m2, г	7,77±1,65	7,93±0,70	7,24±0,99	6,37±0,49
% потери m	11,59	11,75	11,11	10,13

*- P <0,05, ** - P <0,01 выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной (IV) групп птицы

Установлено, что совершенно естественный процесс потери массы яйца существенно не отличается во всех группах. Необходимо учесть, что в подопытных группах было отмечено на 27-30,5% пор в скорлупе больше, чем в контрольной. Если бы качество яиц, полученных от контрольной и подопытной птицы, было бы абсолютно идентичным, следовало бы ожидать, что потеря массы яиц контрольной группы было бы значительно выше. Поэтому, в данном случае, можно предполагать лучшую сохранность и более высокое качество яйца от кур, получавших антиоксидант митофен и янтарную кислоту, как вместе, так и отдельно.

Кроме незначительной потери веса яйца в процессе хранения, иных повреждений, неполноценности и технического брака в отобранных партиях отмечено не было.

Параметры качества яйца, определенные после пяти месяцев хранения отражены в таблице 39.

Таблица 39 - Основные показатели качества яйца после длительного хранения n=10 (M±m)

Показатели	I группа (митофен)	II группа (мит. + янт. к-та)	III группа (Биум + янт. к-та)	IV группа контрольная
Объем яйца, см ³	54,12±2,13	54,35±0,91*	52,89±1,96	51,61±0,89

Индекс формы, %	83,45±1,02	81,34±0,85	80,18±0,72*	81,90±0,62
Диаметр воздушной камеры, см	2,78±0,39	2,99±0,36	3,11±0,15	3,38±0,09
Высота воздушной камеры, см	0,67±0,13*	0,70±0,10*	0,77±0,08	0,93±0,04
Плотность яйца, г/см ³	1,095	1,095	1,095	1,095
Количество пор в скорлупе, шт ×10000	7,51±0,46**	7,47±0,48**	7,63±0,56**	5,85±0,28
Толщина скорлупы, мм	0,51±0,01*	0,47±0,01	0,48±0,01	0,47±0,01
Масса скорлупы относительная, %	14,90±0,77	13,77±0,36*	13,99±0,49	14,80±0,36
Отношение массы белка к массе желтка	2,06±0,25*	1,76±0,08*	1,90±0,15*	1,55±0,06
Масса белка относительная, %	54,69±1,79*	52,80±1,25	54,08±1,88	50,52±0,87
Масса желтка относительная, %	28,81±2,05*	30,29±0,81*	29,53±1,59*	32,95±0,83
Индекс белка, %	5,67±0,20**	4,76±0,20	4,95±0,28	4,59±0,24
Индекс желтка, %	20,51±5,30	25,92±5,83	18,78±6,07	19,31±5,91
pH белка, ед	8,49±0,07**	8,57±0,08*	8,60±0,09*	8,77±0,04
pH желтка, ед	6,15±0,13	5,71±0,14*	5,52±0,05***	6,09±0,07

*- $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; ***- $P < 0,001$ и выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Таким образом, применение митофена в течение 3 месяцев в качестве добавки к рациону в дозе 50 мг/кг корма курам-несушкам с 4 месячного возраста способствует улучшению качества получаемых яиц и их сохранности, включая соответственно:

1. Утолщение скорлупы на 6,8 %.
2. Уменьшение высоты воздушной камеры на 28,0%, диаметра воздушной камеры на 17,8% при хранении в течении 5 месяцев.

3.Повышение количества пор в скорлупе на 28,5%, индекса белка - на 23,4%, индекса желтка - на 6,2%, отношения массы белка к массе желтка - на 32,9% и относительной массе белка - на 8,2%.

4.Снижение рН белка на 3,2%.

Вместе с тем, применение митофена курам-несушкам в указанных дозах не приводит к существенному изменению массы, объема яиц, относительной массы скорлупы, плотности яиц и рН желтка.

Пероральное применение с кормом митофена совместно с янтарной кислотой в течение 3 месяцев курам-несушкам с 4 месячного возраста способствует улучшению качества получаемых яиц и их сохранности, включая соответственно:

1.Уменьшение высоты воздушной камеры на 24,7%, диаметра воздушной камеры на 11,5% при хранении в течение 5 месяцев.

2. Повышение массы и объема яиц на 5,3%, отношения массы белка к массе желтка - на 13,9%.

3.Снижение рН белка на 2,3% и желтка – на 6,3%.

Анализируя результаты II подопытной группы, прослеживается тенденция проявления синергизма митофена с янтарной кислотой, что отражается на показателях качества яйца, в сравнении со всеми остальными группами:

Вместе с тем, применение митофена и янтарной кислоты курам-несушкам в терапевтических дозах не приводит к существенному изменению индекса формы яиц, толщины скорлупы, количества пор в скорлупе, плотности яиц.

Применение пробиотика (БИУМ) с янтарной кислотой в течение 3 месяцев в качестве кормовых добавок к рациону в дозах соответственно 50 и 105 мг/кг корма курам-несушкам в 4 месячном возрасте способствует улучшению качества получаемых яиц и их сохранности, включая соответственно:

1.Уменьшение высоты воздушной камеры на 15,1%, диаметра воздушной камеры на 9,5% и потери массы яиц на 0,94% при хранении в течение 5 месяцев.

2.Повышение массы и объема яиц на 6,1%, индекса белка на 14,5%.

3.Снижение рН белка на 3,6% и желтка – на 8,1%.

Вместе с тем, применение пробиотика и янтарной кислоты курам-несушкам в указанных дозах не приводит к существенному изменению толщины скорлупы, количества пор в скорлупе, относительной массы скорлупы, относительной массы белка, желтка и плотности яиц.

Таким образом, при достоверном увеличении массы и объема яйца, остальные показатели находятся на должном высоком уровне, как и в I и III подопытных группах в отношении контрольной.

Можно отметить, что совокупность полученных в этом опыте данных свидетельствует об отсутствии негативных эффектов и положительном влиянии применяемых антиоксидантов на качество яйца.

Можно утверждать, что совместное применение предложенных в данном опыте антиоксидантов в терапевтическом диапазоне доз не вредит здоровью птицы и способствует улучшению количественных и качественных характеристик получаемой продукции. В рамках проведенного опыта также можно отметить, что применение антиоксидантов, в частности, митофена в рационе кур-несушек способствует улучшению качества яйца и его сохранности при длительном хранении. Кроме того, выявлен некоторый синергизм при одновременном применении антиоксидантов разных классов (в частности, органические кислоты и полифенолы) в рационе в терапевтических дозах.

3.10 Экономическая эффективность применения митофена в птицеводстве

В ряде опытов производился расчет коэффициента конверсии корма. По результатам исследований в группах цыплят, получавших антиоксидант митофен с кормом, коэффициент конверсии лучше на 2-30% по отношению к птице, не получавшей никаких препаратов (таблица 3, 8).

В производственных опытах проводился подсчет экономической эффективности в Республике Беларусь. Согласно акту о внедрении ОАО «Барановичская птицефабрика» Республика Беларусь, отмечено, что пероральная иммунизация цыплят против ИББ на фоне применения митофена обеспечивает, по сравнению с применением одной вакцины, увеличение

экономического эффекта на 30 345, 72 руб. (в расчете на 1000 голов), а так же экономической эффективности ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат - на 0,32 руб. (расчет произведен в валюте и ценах Республики Беларусь на 2014 год).

Заключение

Проведенные исследования показали, что применение полифенольного антиоксиданта митофена с кормом позволяет улучшать обменные процессы и неспецифическую резистентность в организме птицы, что подтверждается соответствующими исследованиями и выражается в повышении показателей продуктивности.

В опытах нам удалось подтвердить высокую антиоксидантную активность препарата и безвредность для организма кур-несушек и цыплят-бройлеров [125,159,167,168,170,176,183,194].

Кроме того, с помощью оригинального метода – определение лизосомально-катионных белков в гранулоцитах крови птиц [150] нам удалось определить способность митофена положительно влиять на неспецифическую резистентность цыплят бройлеров и кур-несушек.

Экспериментально установлено положительное влияние антиоксиданта митофена на неспецифическую резистентность при проведении противоэпизоотических мероприятий, таких как вакцинация. В частности, при иммунизации кур к метапневмовирусной инфекции, Ньюкаслской болезни и болезни Гамборо, применение кормовой добавки с митофеном в течение периода интенсивного роста цыплят приводит к повышению неспецифической резистентности организма птицы, благоприятно влияет на антиоксидантный статус организма и способствует усилению детоксицирующей функции печени. Кроме того, отмечено благоприятное влияние предложенного курса кормовой добавки с митофеном на некоторые показатели крови.

На основании проведенных исследований нами разработана и предложена методика (методические положения) [129] применения митофена в птицеводстве.

Выводы

1. Скармливание с основным рационом митофена в дозе 25-50 мг/кг корма цыплятам-бройлерам способствует увеличению прироста живой массы в среднем на 0,1-2% в сутки в отличие от птицы, не получавшей антиоксидант. При этом показатель конверсии корма в группах цыплят, получавших митофен, до 25% лучше, чем у птицы, получавшей только основной рацион.

2. Применение митофена в дозе 25-50 г/тонну корма достоверно повышает (до 50%) значение уровня лизосомально-катионных белков в клетках крови в отношении цыплят, не получавших антиоксидант, что свидетельствует о положительном влиянии митофена на неспецифическую резистентность организма птицы.

3. Применение митофена в дозе 50 мг/кг корма при иммунизации цыплят яичного направления к возбудителям МПВИ, ИББ и НБ, вызывает иммуномодулирующий эффект, что выражается достоверным увеличением содержания в крови лейкоцитов на 40-100% в пределах физиологической нормы и повышением содержания лизосомально-катионных белков в нейтрофильных гранулоцитах крови подопытной птицы на 15-20%, относительно групп птицы, не получавшей препарат. Это свидетельствует о положительном влиянии митофена на неспецифическую резистентность организма птицы.

4. Применение митофена при вакцинации цыплят против ИББ уменьшает супрессивное влияние вакцинального антигена на органы иммунитета, что выражается существенными морфологическими отличиями в тимусе и фабрициевой бурсе в сравнении с группами интактной и вакцинированной птицы. Так, на 7-й день после вакцинации цыплят против ИББ масса тимуса у вакцинированных птиц составляла $1,22 \pm 0,22$ г, а у получавших митофен – $2,16 \pm 0,32$ г ($p < 0,05$). Иммунизация против ИББ цыплят совместно с добавлением в рацион митофена с 8-го дня их жизни способствовала достоверно большему значению линейных размеров (в среднем в 1,5 раза) фабрициевой бursы, тимуса и селезенки по сравнению с таковыми у интактной и контрольной птицы в первые недели после вакцинации. Это показывает способность

митофена положительно влиять на формирование неспецифической резистентности подопытной птицы.

5. Установлено влияние митофена на качественные и количественные показатели яйца, при скармливании его курам-несушкам с четвертого месяца жизни в течение 3-х месяцев в дозе 50 г/тонну корма. Это проявляется увеличением массы яйца до 10% от кур-несушек, получавших митофен в отличие от птицы контрольной группы. Кроме того, при длительном хранении яиц достоверно увеличивается разница в показателе индекса белка между группами. Так, у яиц от подопытных кур, получавших митофен с кормом, этот показатель снизился в среднем с $5,96 \pm 0,28$ до $5,67 \pm 0,22$, у яиц от кур контрольной группы показатель снизился с $5,88 \pm 0,22$ до $4,59 \pm 0,24$, что является весьма существенным.

6. Установлено, что совместное применение митофена (в дозе 50 мг/кг корма) с янтарной кислотой (в дозе 105 мг/кг корма) курам-несушкам, начиная с 120-ти дневного возраста в течение 3-х месяцев, достоверно повышает уровень лизосомально-катионных белков нейтрофильных гранулоцитов крови и снижает уровень малонового диальдегида в отношении групп, получавших янтарную кислоту без митофена (на 10 и 28% соответственно) и контрольной (на 53 и 35% соответственно). Это свидетельствует о синергидном действии митофена и янтарной кислоты на данные показатели.

7. Полученные результаты показали, что применение митофена в промышленном птицеводстве экономически выгодно и целесообразно для повышения резистентности организма цыплят и кур-несушек, а также их продуктивности. Коэффициент конверсии корма в группах, получавших антиоксидант митофен, достоверно выше на 2-30% в отношении птицы, которой скармливали основной рацион без дополнительных добавок. Установлено, что применение митофена цыплятам при иммунизации против ИББ по сравнению с вакцинированными цыплятами, не получавшими антиоксидант, обеспечивает увеличение экономической эффективности ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат - на 0,32 руб.

Список сокращений

АДФ - аденозиндифосфат

АО – антиоксидант

АТФ – аденозинтрифосфат

ГНУ ВНИВИП – Государственное научное учреждение Всероссийский Научно-Исследовательский Ветеринарный Институт Птицеводства

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИББ – инфекционная бурсальная болезнь, болезнь Гамборо

МДА – малоновый диальдегид

МПВИ – метапневмовирусная инфекция

НБ – ньюкаслская болезнь

ОР – основной рацион

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СР – свободный радикал

СРО - свободнорадикальное окисление

УО ВГАВМ - УО «Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины»

Ig – иммуноглобулин

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Влияние митофена на гематологические и иммунологические показатели цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни / И.Н. Громов, А.В. Святковский, Ф.С. Кадхум [и др.] // Животноводство и ветеринарная медицина. - 2014. - № 1 (12). - С. 48-52.

2. Влияние «Митофена» на макроморфометрические показатели органов иммунитета цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни / Ф.С. Кадхум, И.Н. Громов, Я.С. Масейкова [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ. - Витебск, 2014. - Т.50, вып. 2. - С. 31-34.

3. Применение кормовой добавки с митофеном цыплятам / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, А.А. Слободянюк, А.А. Святковский //Мат. междунар. агропром. конгр. «Перспективы инновационного развития агропромышленного комплекса и сельских территорий» - СПб, 2014, С.85-87.

4. Святковский А.А. Влияние митофена на рост симбионтной микрофлоры. / А.А. Святковский, Л.А. Дзявго, А.В. Святковский //Мат. междунар. н.-п. конф. «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве» 30-31 октября 2014 г. – СПб, изд-во «Любавич», 2014, С.176-178

5. Святковский А.В. Влияние кормовой добавки с митофеном на качество куриных яиц при хранении / Святковский А.В., Рябцев П.С., Святковский А.А. //ж. Птица и птицепродукты. – 2015,№6. – С. 34-36.

6. Влияние митофена на морфологию лимфоидных образований пищеварительной системы цыплят, вакцинированных против ИББ на фоне экспериментального хронического сочетанного микотоксикоза / И.Н. Громов, Е.И. Большакова, Ф.С. Алараджи [и др.] // Молодой ученый. - 2016. - № 6.5(110.5). - С. 60-62.

7. Влияние митофена на биохимические показатели сыворотки крови цыплят, вакцинированных против ИББ на фоне экспериментального хронического полимикотоксикоза / Л.Н. Громова, И.Н. Громов, Ф.С. Алараджи, [и др.] // Молодой ученый. - 2016. - № 6.5(110.5). - С. 63-65.

8. Методические положения по использованию натриевой соли [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] в птицеводстве /А.В. Святковский, П.С. Рябцев, И.Н. Громов, [и др.] // Утверждены Ученым Советом ФГБНУ ВНИВИП 23.11.2015 г. - Санкт-Петербург. Ломоносов: ФГБНУ ВНИВИП, 2015. - 10 с.

9. Святковский А.А., Андреева Н.Л. Применение митофена с кормом курам-несушкам и его влияние на показатели качества куриного яйца //А.А. Святковский, Н.Л. Андреева // Международный вестник ветеринарии – 2015, №4, - С. 21-26.

10. Святковский, А.А. Антиоксидантный статус и неспецифическая резистентность у цыплят-бройлеров при сочетанном применении Митофена и ветохита / Святковский А.А., П.С. Рябцев, А.В. Святковский / Мат. IV-го междунар. конгр. Ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» - СПб, 2016,с.167-168.

Список литературы

1. Абрамов, С.С. Методические указания по определению естественной резистентности и путях ее повышения у молодняка сельскохозяйственных животных /С.С. Абрамов, А.Ф. Могиленко, А.И. Ятусевич - Витебский вет. ин-т. – Витебск. - 1989. – С. 16-20.
2. Алвердиева, Г.Р. Применение тимогена для коррекции иммунодефицита, сопутствующего гипотрофии новорожденных телят / Г.Р. Алвердиева, С.И. Лютинский // сб. науч. тр. МВА им. К.И. Скрябина - М.: Изд-во МВА. - 1992. - С. 46-47.
3. Александрова, А.Е. Антигипоксическая активность биотопа. / А.Е. Александрова, Ф.С. Енохин, Ю.В., Медведев, В.Г. Попов // Экспериментальная патология и терапия лёгочного и внелёгочного туберкулёза – 1985. –С.30-35
4. Александровская, О.В. Цитология, гистология и эмбриология / О.В. Александровская, Т.Н. Радостина, Н.А. Козлов - М.: Агропромиздат - 1987. - 448 с.
5. Алиев, А. С. Инфекционная бурсальная болезнь птиц / А.С. Алиев – СПб.: Изд-во НИИЭМ им. Пастера. - 2010.- 208 с.
6. Алиев, А.С. Выявление Т-лимфоцитов птиц с помощью розеткообразования / А.С. Алиев, А.А. Сухинин, Л.Ф. Шабанова, М.Н. Барклай-де-Толли // Тез.докл. Всесоюзной конференции "Современные проблемы иммунологии, биотехнологии, генной и клеточной инженерии в ветеринарной медицине". - 1990. - С.2-3.
7. Андреева, Н.Л. Новые биологически активные вещества в ветеринарии / Н.Л. Андреева, В.Д. Соколов // Аграрный вестник Урала. - 2012. - № 5. - С. 23-24.
8. Андреева, Н.Л. Адаптогенные свойства янтарной кислоты / Н.Л. Андреева // Мат. 16 междунар. межвуз. научно-практической конф.: «Новые фармакологические средства в ветеринарии». СПб. – 2004. – С.38

9. Андреева, Н.Л. Многообразие позитивных фармакологических эффектов янтарной кислоты / Н.Л. Андреева // "Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки". Экспресс-информация. СПб. - 2003. - №14. - С.5.
10. Андреева, Н.Л. Разработка фармакологических средств и методов, повышающих продуктивность птиц / Андреева Надежда Лукояновна, автореф. дисс док.биол.наук. СПб., 1992. 36 с.
11. Андреева, Н.Л. Фармакокорректоры продуктивности животных / Н.Л.Андреева // Матер. межвуз. конф. "Животноводство и ветеринария", Белгород. - 1995. - С.47-49.
12. Андреева, Н.Л. Иммунобиохимические изменения в организме бройлеров при стимуляции продуктивности / Н.Л. Андреева, Соколов В.Д. // Ветеринария. – 1987. -№ 7. – С.61-62.
13. Андреева, Н.Л. Первичная оценка эффективности иммуномодуляторов / Н. Л. Андреева, А. В. Соколов // Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки. Экспресс-информация. — СПб. - 1997. - С. 12-13.
14. Антипов, В.А. Применение селенорганического препарата ДАФС - 25 в животноводстве / В.А. Антипов, Т.Н Радионова, Т.С. Геращенко // В сб. Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных. – Воронеж. - 2004. - С.159-161
15. Артюх, Е.И. Естественная резистентность организма кур в зависимости от возраста и условий содержания / Е.И. Артюх // Науч. тр. Харьков. Зоовет. ин-та.- 1967. - Т.II.- С. 201-209
16. Базова, Е.С. Исследование токсических свойств митофена на птице / Е.С. Базова, А.В. Святковский, П.С. Рябцев [и др.] // Мат. Международной научно-практической конференции 7-8 июня. СПб. - 2011. – С. 135-136.
17. Бакулин, В.А. Патоморфогенез и дифференциальная диагностика болезни Гамборо, аденовирусной инфекции и других иммунодепрессивных болезней птиц / В.А. Бакулин //Архив вет. наук. СПб., Ломоносов. - 1998. - Т. 1(48). - 322с.

- 18.Бакулин, В. А. Болезни птиц / В. А. Бакулин. - СПб. - 2006. - 688 с.
- 19.Бахов, Н.И. Роль нейтрофилов в регуляции метаболизма тканей (обзор литературы) / Н.И. Бахов, Л.З. Александрова, В.Н. Титов // Лаб. дело. - 1988. - № 6. - С. 3-12.
- 20.Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. / М.Л. Беленький, - Л.: Гос. изд-во Мед.лит. – 1968.- 151с.
- 21.Бессарабов, Б.Ф. Болезни кур. / Б.Ф. Бессарабов, - М.: Россельхозиздат. - 1974. - 136 с.
- 22.Бессарабов, Б.Ф. Применение мумие для стимуляции формирования иммунитета у птицы. / Б.Ф. Бессарабов, И.И. Мельникова, Л.П. Гонцова, А.А. Дорогавцев // Ветеринария. – 1999. - № 6. - С. 15-16.
- 23.Бессарабов, Б.Ф. Уровень естественной резистентности птиц при различных кормовых добавках / Б.Ф. Бессарабов, Г.М. Урюпина. // Повышение естественной резистентности с.-х. птицы. - 1983. - С.3-6.
- 24.Бессарабов, Б.Ф. Ветеринарно-санитарные мероприятия при профилактике болезней птиц. / Б.Ф. Бессарабов – М.: Россельхозиздат. - 1983. - 190с.
- 25.Бирман, Б.Я. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц./ Б.Я. Бирман, И.Н. Громов, В.С. Прудников [и др.] – Минск: Бизнесофсет. - 2008. – 148с.
- 26.Бирман, Б.Я. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск: Бизнесофсет. - 2004. – 92 с.
- 27.Бирман, Б.Я. Иммунодефицит у птиц / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск : Бизнесофсет. - 2001. – 140 с.
- 28.Болезни сельскохозяйственных животных // П.А. Красочко, М.В. Якубовский, А.И. Ятусевич [и др.] Под ред. Красочко П.А. Изд. „Бизнесофсет” Минск: 2005. – 800 с.
- 29.Болотников, И.А. Иммунопрофилактика инфекционных болезней птиц / И.А. Болотников. - М.: Россельхозиздат. - 1982. - С. 5-41
- 30.Болотников, И.А. Стресс и иммунитет у птиц. / И.А. Болотников, В.С

- Михкиева, Е.К. Олейник. - Л.: Наука. - 1983. - С. 3-93.
31. Болотников, И.А., Иммунология. Иммунитет. Иммунологические реакции. / И.А. Болотников, Н.А. Добротина, С.Н. Лызлова - Петрозаводск. - 1989. - 94 с.
32. Болотников, И.А. Бактерицидная и р-литическая активности сыворотки крови птиц / И.А. Болотников, А.М. Образцова // Методы иммунологии птиц - Петрозаводск, Карельский филиал АН СССР. - 1976. - С. 28-33.
33. Болотников, И. А. Практическая иммунология сельскохозяйственной птицы / И.А. Болотников, Ю.В. Конопатов. - СПб.: Наука. - 1993. - 280с.
34. Болотников, И.А. Гематология птиц / И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев – Л.: Наука. - 1980. – 115 с.
35. Борздов, А.А. Оценка иммуногенности интактных липосом по показателям гуморального и клеточного иммунитета / А.А. Борздов, О. В. Логвиненко, И.Ю. Борздова // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2008. - №3. - С. 6-8.
36. Брехман, И.И. Женьшень и элеутерококк источники лекарственных средств нового типа действия. / И.И. Брехман, О.И. Кириллов. // Растительные ресурсы. - 1968. - № 1, 3. - С. 21-25.
37. Брехман, И.И. Женьшень. / И.И. Брехман.- Л., Медгиз. - 1957. – 182 с.
38. Брехман, И.И. Что противостоит стрессу? Адаптация и адаптогены / И.И. Брехман.- Владивосток. - 1977. -230 с.
39. Брехман, И.И. Элеутерококк / И.И. Брехман. - Л.: Наука. - 1968. – 186с.
40. Брыкина, Л.И., Влияние ауры на естественную резистентность организма птиц: Дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03/ Любовь Ивановна Брыкина - Новосибирск, 2004. - 120с..
41. Бузлама, В.С. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма животных / В.С. Бузлама, М.И. Рецкий, Н.П. Мещеряков, [и др.] - Воронеж, 1997. - 36 с.

42. Буяров, В.С. Применение экологически безопасных препаратов при выращивании бройлеров / В.С. Буяров // Мат. 16 междунар. Межвуз. науч.-практич. конф.: новые фармакологические средства в ветеринарии. – СПб, 2004. - С. 97-98.
43. Быков, В.А. Производство белковых веществ. / В.А. Быков, М.Н. Манаков, В.И. Панфилов [и др.] - М., Высшая школа. - 1987. - С. 14-22.
44. Бышевский, А.Ш. Биохимия для врача / А.Ш. Бышевский, О.А. Терсенов. – Екатеринбург: Уральский рабочий. - 1994. – 383 с.
45. Вальдман, Р.А. Биохимия питания и повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. / Р.А. Вальдман // Сельскохозяйственная биология. – 1984. - № 2. - С. 5-9.
46. Васин, А.Д. Биологически активные препараты / А.Д. Васин // Ветеринарные препараты. - 1981. - С.399-406.
47. Виноходов, В.О. Патологический каскад или общая патология болезней птиц / В. О. Виноходов // Ветеринария в птицеводстве. - 2002. - № 2. - С. 4-11.
48. Виноходова, М.В. Определение интегральной резистентности организма методом коли-клиренса: дисс. ...канд.вет. наук 06.02.02 / Мария Владимировна Виноходова - СПб, 2015, 116с.
49. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчков. – М.: Наука. - 1972. – С. 52.
50. Войтенко, В.Д. Влияние некоторых органических кислот на эффективность химиопрепаратов / В.Д. Войтенко // Мат. 16 междунар. межвуз. науч.-практич. конф.: Новые фармакологические средства в ветеринарии. – СПб. - 2004. - С.41-42.
51. Волкова, О.И. Влияние пиридоксина и тривита на рост и резистентность животных. / О.И. Волкова. // Фармакология и токсикология новых лекарственных средств и кормовых добавок в ветеринарии. - 1989. - С. 19-20.

52. Воронина, Т.А. Перспективы применения антиоксидантов в ветеринарной практике/ Т.А. Воронина, М.Г. Романов, Н.А. Фролова // Ветеринарный доктор. – 2009. - №3. - С. 5.
53. Галактионов, В.Г. Эволюционная иммунология. / В.Г. Галактионов - М.: Академкнига. - 2005. – 408 с.
54. Галактионов, В.Г. Механизмы иммунитета в графической форме. / В.Г. Галактионов - М.: Медицина. 2000. – 270 с.
55. Гаркави, Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма. / Л.Х. Гаркави, Е.Б.Квакина, М.А. Уколова - Ростов н/Д: Изд-во Ростовского ун-та. - 1990. -224 с.
56. Гаркави, Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, Т.С. Кузменко - М.: ИМЕДИС. - 1998. –654 с.
57. Гацура, В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура - М.: Медицина. - 1974. - 141 с.
58. Голиков, А.М. Адаптация сельскохозяйственных животных / А.М. Голиков. - М.: Колос. - 1985. - С. 11-29.
59. Голубев, Д.Б. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии / Д.Б. Голубев, А.А. Соминина, М.Н. Медведева - Л.: Медицина. – 1976. - 224 с.
60. Горизонтов, П.Д. Гомеостаз / П.Д. Горизонтов. - М.: Медицина. - 1981.- 350с.
61. Горшков, Г.И. Влияние аскорбината натрия на рост цыплят / Г.И. Горшков, О.В. Мерзленко, Г.Н. Мартынов // Фармакологические и токсикологические аспекты применения лекарственных веществ в животноводстве - 1992. – С. 36-37.
62. Горышина, Е.Н. Сравнительная гистология тканей внутренней среды с основами иммунологии. / Е.Н. Горышина, О.Ю. Чага - Л.: Изд-во Ленингр. ун-та. - 1990. - 320 с.
63. ГОСТ 31654-2012. Яйца куриные пищевые. Технические условия - М.:

Стандартинформ. - 2013. - 12 с.

64. Громов, И.Н. Влияние митофена на гематологические и иммунологические показатели цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни / И.Н., Громов, А.В. Святковский, Ф.С. Кадхум [и др.] // Животноводство и ветеринарная медицина (Респ. Беларусь) . – 2014. - №1. - С. 48-52.
65. Гусельникова, Е.В., Влияние витамина С и йода на продуктивные показатели и естественную резистентность кур промышленного стада: дис. ... канд. сельхоз. наук: 06.02.02 / Елена Викторовна Гусельникова. — Барнаул, 2005. — 131 с.
66. Гущина, Э.В. Влияние пептидогликана (ППГ) и хитозана (хит) на клеточные факторы естественной резистентности поросят / Э.В. Гущина, А.А. Прокопьев, В.В. Шейбах // Тезисы докладов ко 2-й межвузовской научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии». – 1990. -С. 34-35.
67. Двинская, Л.М. Использование антиоксидантов в животноводстве / Л.М. Двинская, А.А. Шубин - Л.: Агропромиздат. - 1986. - 180 с.
68. Девяткина, Г.А. Активность физиологической антиоксидантной системы как критерий резистентности организма к стрессу / Г.А. Девяткина // Биоантиоксидант: Тез. докл. II Всес. конф. – Черноголовка. - 1986. - Т.2. - С. 118-119.
69. Деева, А.В. Повышение естественной резистентности и иммунитета фармакологическими средствами / А.В. Деева // Материалы XVII Междунар. межвуз. науч.-практич. конф. «Новые фармакологические средства в ветеринарии», посвящ. 60-летию Победы в Великой Отечественной войне 1941-1945 гг.- СПб. - 2005. - С. 111-112.
70. Джавадов, Э.Д. Вирус-индуцированные иммуносупрессии и способы их предупреждения в промышленном птицеводстве: дис. ... докт. вет. наук: 16.00.03 / Эдуард Джавадович Джавадов. —2004. — 345 с.

71. Диагностика и патоморфологические изменения в крови и органах иммунной системы птиц при инфекционной анемии: рекомендации / И.Н. Громов [и др.] // Витебск : Копицентр-АС-принт, 2013. – 58 с.
72. Дорофейчук, В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В.Г. Дорофейчук // Лабораторное дело, 1963. - №1. – С.15.
73. Дранник, Г.Н. Иммунотропные препараты / Г.Н. Дранник, Ю.А. Гриневич, Г.М. Дизик. – Киев: Здоровье. - 1994. – 288 с.
74. Евглевская, Е.П. Эффективность препаратов янтарной кислоты при метаболическом ацидозе и кетозе коров / Е.П. Евглевская, И.И. Михайлова, И.Л. Палаус [и др.] // Мат. V Междунар. съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов: «Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии». - Витебск, 26-30 мая 2015. - С. 231-233
75. Евдокимов, П.Д. Влияние протогигролитина на темп роста свиней при откорме / П.Д. Евдокимов, А.А. Гомулькин, А.П. Башкович. - Л, ЛЦНТИ. - 1974. - С. 4.
76. Евстратова, А.М. Пути повышения жизнеспособности птицы в промышленных условиях / А.М. Евстратова. // ВАСХНИЛ. Обзорная информация. – 1979. - С. 37.
77. Жаворонкова, Л.Д. Продуктивность и резистентность кур в зависимости от разного уровня травяной муки в рационе / Л.Д. Жаворонкова, Е.В. Дьяконова // Повышение естественной резистентности с/х птиц. Сб. науч. тр. МВА. -1983.- С. 26-28.
78. Журавлёв, А.И. Биоантиокислители в животном организме / А.И. Журавлёв // Биоантиокислители - 1975. - С.15-30
79. Журавлёв, А.И. Развитие идей Б.Н.Тарусова о роли цепных процессов в биологии / А.И. Журавлёв // Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. - 1982. - С. 3-36
80. Журавлев, А.И. Спонтанная биохемилюминесценция сыворотки крови и

- мочи в клиническом анализе и эксперименте // А.И. Журавлев // Вопросы медицинской химии. - 1996. - Т. 42. - № 1. - С. 9-15.
81. Зотова, М.И. Золотой корень новое стимулирующее и адаптогенное средство: автореф. дис. . канд. биол. наук / Матрена Иосифовна Зотова - Томск, 1965. -16с.
82. Зотова, М.И. Сравнительная характеристика стимулирующего и адаптогенного действия экстрактов золотого корня и элеутерококка / М.И. Зотова // Стимуляторы центральной нервной системы. - 1966. - С. 67-71.
83. Иванов, Н. В. Применение Фоспренила в птицеводстве / Н.В. Иванов, К.А. Головещенко // Мат. XVII Междунар. межвуз. науч.-практ. Конф. «Новые фармакологические средства в ветеринарии», посвященной 60-летию Победы в Великой Отечественной войне 1941-1945 гг. - СПб., 2005. - С. 113.
84. Игнатъев, Н.Т. Механизм действия селенита натрия в пищеварительных железах телят / Н.Т. Игнатъев, Н.К. Кириллов // Ветеринарный врач. – 2001. - №4 (8). - С. 55-56.
85. Ионов, П.С. Лабораторные исследования в ветеринарной клинической диагностике /П.С. Ионов, В.Г.Мухин, Н.Р. Семушкин [и др.] / Под ред. проф. П.С. Ионова . – М., 1957. – С.155-156.
86. Кадхум, Ф.С. Влияние «Митофена» на макрометрические показатели органов иммунитета цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни. / Кадхум, Ф.С., Громов И.Н., Масейкова Я.С. [и др.] // Уч. зап. Витебской ордена «Знак Почета» Гос. Академии ветеринарной медицины (Респ. Беларусь). – 2014. -Т.50. - Вып. 2. - Ч. - С. 31-34.
87. Калико, И.М. Действие экстрактов левзеи и золотого корня на динамические особенности высшей нервной деятельности / И.М. Калико, А.А. Тарасова // Стимуляторы центральной нервной системы. - 1966. - С. 115-120.
88. Карпуть, И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка / И.М. Карпуть - Мн.: Ураджай. - 1993. – С.287 с
89. Кассиль, Г.Н. Внутренняя среда организма / Г.Н. Кассиль - 1983. – 227с.

90. Катлинский, А.В. Курс лекций по биотехнологии / А.В. Катлинский, Ю.О. Сазыкин, С.Н. Орехов, И.И. Чакалева. - 1969 - 150 с.
91. Кириллов, О.И. Клеточные механизмы стресса / О.И. Кириллов. - Владивосток.: Дальневост. кн. изд-во. - 1973. - С.7-5.
92. Кириллов, О.И. Опыт фармакологической регуляции стресса / О.И. Кириллов – Владивосток. - 1966. – 106 с.
93. Кирючковский, А. Повысить требования к качеству комбикормов / А.Кирючковский // Птицеводство. – 1983. - № 3. - С. 20-22.
94. Кисленко, В.Н. Ветеринарная микробиология и иммунология / В.Н. Кисленко, Н.М. Колычев // Иммунология. - 2007. - 224с.
95. Клиническая иммунология и аллергология. В 3 томах. Том 1. Пер. с нем. / Под ред. Л. Йегера. - М.: Медицина. - 1990.- 528 с.
96. Ковалев, С.П. Клиническая оценка гематологических исследований у сельскохозяйственных животных: Методические указания / С.П. Ковалев – СПб. - 2005.- С. 19-20.
97. Коваленко, Я.Р. Факторы, влияющие на формирование поствакцинального иммунитета / Я.Р. Коваленко // В кн.: "Проблемы иммунитета сельскохозяйственных животных". - 1966. - С. 209-220.
98. Ковальчикова, М. Адаптация и стресс при содержании и разведении сельскохозяйственных животных / М. Ковальчикова, К. Ковальчик. М.: Колос. - 1978. - С. 21-34.
99. Колабская, Л.С. Контроль неспецифической резистентности птиц и пути ее повышения / Л.С. Колабская // Тезисы докл. ИОВНДП “Задачи птицеводства в выполнении продовольственной программы СССР 22-24.10.1985 г.”. – Баку. - 1985. – С. 175-176.
100. Комов, В.П. Биохимия / В.П. Комов, В.Н. Шведова - М.:Дрофа. - 2008. - 638 с.
101. Кондаков, С.Э. Опыт применения в ветеринарии нового отечественного препарата на основе метилглиоксаля / С.Э. Кондаков, В.А. Кузьмин, А.В.

- Святковский [и др.] // Ветеринарная Практика. – 2012. - №1 (56). - С. 31-35.
102. Конопатов, Ю.В. Основы иммунитета и кормление сельскохозяйственной птицы / Ю.В. Конопатов, Е.Е. Макеева - СПб: Петролазер. - 2000. - 120с.
103. Красников, Г.А. Методические рекомендации по гистоморфологической оценке иммунокомпетентных органов цыплят в норме и при иммунодефицитах / Г.А. Красников, Н.Г. Колоусова – Харьков. - 1989. - 20 с.
104. Краснов, Е.А. Стимулирующее действие препаратов из видов *Rhodiola L.* / Е.А. Краснов, М.И. Зотова, М.Ф. Нехода [и др.] // Растит. Ресурсы. – 1978. – Т.14. - Вып. 1. - С. 90-92.
105. Крыканов, А.А. Продуктивность бройлеров при использовании в рационе сухой биомассы женьшеня / А.А. Крыканов, Н.А. Мясоедов, С.Н. Говорухин // Резервы повышения жизнеспособности и продуктивности птицы. Межвуз. сб. науч.тр. - М.: МВА. - 1989. С. 53-55
106. Кузнецов, В.С. Применение сухой молочной сыворотки в рационе молодняка птицы для повышения ее резистентности. Повышение естественной резистентности с/х птицы / В.С. Кузнецов, Г.В. Реброва // Сборник науч. тр. МВА. М. - 1983. - С. 12-15.
107. Кузнецова, Т.С. Серия специальных премиксов «Алтавим» для лошадей. / Т.С. Кузнецова // Мат. 5-ой науч.-практич. конф. «Болезни лошадей: диагностика, профилактика, лечение». - 2004, 20-22 августа - С. 127.
108. Кузник, Б.И. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма / Б.И. Кузник, Н.В. Васильев, Н.Н. Цыбиков. - М.: Медицина. -, 1989. - 320 с.
109. Кузник, Б.И. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма / Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбиков, Ю.А. Витковский // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2005. - №2 (22). - С. 3-16.
110. Лазарев, Н.В. Лекарство и резистентность организма к неблагоприятным воздействиям среды / Н.В. Лазарев // Тез. докл. конф. по проблемам

- приспособительных реакций и методам повышения сопротивляемости организма к неблагоприятным воздействиям. - 1958. - С. 50-52.
111. Лазарева, Д.Н. Стимуляторы иммунитета / Д.Н. Лазарева, Е.К. Алехин. – М.: Медицина. - 1985. – 256 с.
112. Лондон, Е.С. Обмен веществ в организме животных и человека / Е.С. Лондон, Я.А. Ловцкий – М.-Л.: Гос изд-во биол.и мед.литературы. -1938. – 771с.
113. Луговская, С.А. Структура и функции моноцитов и макрофагов / С.А. Луговская // Клиническая и лабораторная диагностика – 1997. - № 9. - С. 10-16.
114. Лукашенко, В.С. Методические рекомендации по проведению анатомической разделки тушек и органолептической оценки качества мяса и яиц сельскохозяйственной птицы, и морфологии яиц / В.С. Лукашенко, М.А. Лысенко, Т.А. Столяр– Сергиев Посад.: ВНИТИП. - 2004. - 27 с.
115. Лукьянова, Л.Д. Кислородозависимые процессы в клетке и её функциональное состояние / Л.Д. Лукьянова, Балмуханов Б.С., Уголев А.Т. - М.: Наука. - 1982. - С. 188
116. Лунегова, И.В. Антиоксиданты против микотоксинов / И.В. Лунегова, А.В. Святковский // Эффективное животноводство. – 2014. - № 8, 2014. - С. 58-59.
117. Лунина, Н.В. Реакция лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов на действие стрессора неинфекционной природы / Н.В. Лунина, С.Б. Коваль // Физиол. журн. – 1982. - Т. 28. - № 6. - С. 736-741
118. Луппова, И.М. Иммуноморфогенез у кур, вакцинированных против ньюкаслской болезни, и влияние на него триметазона (препарата О-92): дис. ...канд. вет. наук 16.00.02. / Ирина Михайловна Луппова - Витебск. 1998. - 235 с.
119. Лю, Б.Н. Антиоксидантная система клетки и канцерогенез / Б.Н. Лю, М.Л. Ефимов // АН СССР. – 1976. – Т. 82. - Вып.2(5). - С.236-251.

120. Ляпустина, Т.А. Препараты элеутерококка в животноводстве / Т.А. Ляпустина. - М.:Колос. - 1980. - 64 с.
121. Ляшенко, В.А. Макрофаги в инфекционном процессе / В.А. Ляшенко // Иммунология. - 1995. - №4. - С. 48-52.
122. Макаров, В.В. Ветеринарная иммунология. Фундаментальные основы / В.В. Макаров, В.М. Манько, Д.А. Девришов - М.: Изд-во «Агровет». - 2011. - 752 с.
123. Марина, Т.Ф. К фармакологии золотого корня / Т.Ф. Марина, Т.П. Прищеп. // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. мед. Наук. – 1964. - № 4. - Вып. 1. - С. 49-55.
124. Медведев, Ю.В. Натриевая соль поли (пара-дигидрокси-парафенилен) тиосульфокислоты, обладающая супероксидазной активностью и способ ее получения / Ю.В. Медведев, Д.В. Соболев, К.К. Калниньш // Рос. пат. 2175317 от 27.10.2001.
125. Медведев, Ю.В., Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма / Ю.В. Медведев, А.Д. Толстой – М.; ООО «Терра–Календер и Промоушен». - 2000. - 232с.
126. Меерсон, Ф.З. Адаптация, стресс, и профилактика / Ф.З. Меерсон - М.: Наука 1981. - 279с.
127. Мельниченко, В.И. Антиоксиданты в ветеринарии: новые возможности / В.И. Мельниченко // Ветеринарная клиника. – 2006. - №7 - С. 2-5
128. Мерзленко, О.В. Фармако-токсикологическая оценка побочных продуктов промышленного производства аскорбиновой кислоты: Автореф. дисс. канд вет. наук. 16.00.04 / Ольга Валерьевна Мерзленко - Белгород, 1992. - 18 с.;
129. Методические положения по использованию натриевой соли [поли(2,5–дигидрооксифенилен)–4–тиосульфокислоты] в птицеводстве / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, И.Н. Громов, [и др.]. – Санкт-Петербург, Ломоносов: ФГБНУ ВНИВИП. - 2015. – 10 с.

130. Методические рекомендации по проведению анатомической разделки тушек и органолептической оценки качества мяса и яиц сельскохозяйственной птицы, и морфологии яиц / под общ. ред. В.С. Лукашенко, В. Ф. Кузнецова. - Сергиев Посад . - 2004. - 26 с.
131. Мечников, И.И. Этюды оптимизма / И.И. Мечников - М.: Наука. - 1964. - 327 с.
132. Мещеряков, Н.П. Яктон - адаптоген - антиоксидант в птицеводстве / Н.П. Мещеряков, А.В. Бузлама // В сб. Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных. - 2004. - С. 243-247.
133. Митюшников, В.М. Естественная резистентность сельскохозяйственной птицы / В.М. Митюшников - М.: Россельхозиздат. - 1985. – 160 с.
134. Морозов, В.Г. Пептидные биорегуляторы / В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон - СПб.: Наука. - 1996. - 74 с.
135. Новиков, Д.К. Медицинская иммунология / Д.К. Новиков - Витебск: Изд-во ВГМУ. - 1999. - 176 с.
136. Новикова, Н.Н. Применение парааминобензойной кислоты для профилактики заболеваний и стимуляции роста поросят / Н.Н. Новикова // Докл. Рос. акад. с-х. наук. - 2000. - № 6. - С. 44-45.
137. Новицкий, А.П., Применение антиоксидантов в рационах пушных зверей. / А.П. Новицкий // Мат. междунар. конф. «Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных». - Воронеж 2004. - С. 263–268
138. Ноздрин, Г.А. Изучение влияния ветома 3 на качество яйца птицы кросса Родонит / А.Г. Ноздрин, А.Б. Иванова // материалы 3-й науч.-практ. конф. фак. вет. медицины НГАУ «Актуальные вопросы ветеринарии», Новосибирск. - 2001. - С.- 57
139. Ноздрин, Г.А. Изучение влияния ветома 3 на рост и развитие цыплят / Г.А. Ноздрин, А.Б. Иванова, И.В. Наумкин // Материалы 3-й науч.- практ. конф. фак. вет. медицины НГАУ «Актуальные вопросы ветеринарии», Новосибирск. - 2001. - С. 60-61.

140. Ноздрин, Г.А. Превентивное применение пробиотиков цыплятам / Г.А. Ноздрин, И.В. Наумкин, А.Б. Иванова // Мат. науч.-практич. конф. фак. вет. медицины НГАУ «Актуальные вопросы ветеринарии», Новосибирск. - 2001. - С. 8.
141. Образцова, А.М. Определение лизоцима и комплемента в сыворотке крови птиц /А.М. Образцова, Э.Л. Мельник // Методы иммунологии птиц. Карельский филиал АН СССР. – Петрозаводск. - 1976. - С. 25-28.
142. Однороб, В.В. Гистологическое и гистохимическое строение легкого кур. / В.В. Однороб // Макро- и микроморфология сельскохозяйственных животных и пушных зверей. - 1990. - С. 38-42.
143. Однороб, В.В. Гистологическое строение трахеи кур / В.В. Однороб // Межвуз. науч. сб «Эколого-экспериментальные аспекты функциональной, породной и возрастной морфологии домашних птиц», Воронеж. -1988. - С. 64-68.
144. Однороб, В.В. Структурно-функциональный гистогенез трахеи и легких кур в онтогенезе / В.В. Однороб // Макро- и микроморфология сельскохозяйственных животных и пушных зверей. - 1990. -С. 20.
145. Онуфриенко, М.Э. Использование антиоксидантов в кормах животных / М.Э. Онуфриенко // Ветеринарная Практика. – 2000. - №3(10). - С. 17-19.
146. Осман Хассан, Мохамед Али Комбикорма с ячменем и пшеницей, обогащенные ферментными препаратами пектофоетидина ГЗх и целловиридина ГЗх, в кормлении цыплят-бройлеров / Мохамед Али Осман Хассан: диссертация ... канд. с.-х. наук. - Москва – 1984. – 135 с.
147. Петров, Р.В. Вклад иммунологии в развитие медико-биологических дисциплин / Р.В. Петров // Иммунология. - 1999. - №1. - С. 4-9
148. Петрухин, И.В. Применение химических и биологических веществ в кормлении птицы / И.В. Петрухин. - М.: Россельхозиздат. - 1972. - С. 23-49.
149. Пигаревский, В. Е. Лизосомально-катионный тест / В.Е. Пигаревский // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1975. - № 3. - С. 86 - 88.

150. Пигаревский, В.Е. Лизосомально-катионный тест определения уровня неспецифической резистентности организма птиц (методические рекомендации) / В.Е. Пигаревский, Ю.А. Мазинг, Л.С. Колабская [и др.] – 1980. – 6 с.
151. Плещитий, К.Д. Витамин А и его синтетические производные как стимуляторы противоопухолевого иммунитета / К.Д. Плещитий // Вопросы онкологии. - 1988. - Т. 34. - №11. - С. 1283-1290.
152. Плященко, С.И. Влияние кормовых факторов на формирование естественной резистентности организма животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров // Докл. / ВАСХНИЛ. – 1982. - № 11. - С.37-39.
153. Плященко, С.И. Воздействие стрессовых факторов на здоровье и продуктивность сельскохозяйственных животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров. – Мн.: Бел. НИИНТИ. -, 1981. - С. 12-45.
154. Плященко, С.И. Естественная резистентность организма животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров.- Л.: Колос. - 1979. – 184 с.
155. Плященко, С.И. Повышение естественной резистентности организма животных основа профилактики болезней / С.И. Плященко // Ветеринария. - 1991. - № 6. - С. 49-52.
156. Плященко, С.И. Резистентность организма животных при различных типах кормления и условиях содержания / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров // Ветеринария. - 1983. - № 2. - С. 22-25.
157. Плященко, С.И. Предупреждение стрессов у сельскохозяйственных животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров - Мн: Ураджай. - 1983. – 136 с
158. Рябцев, П.С. Изучение подострой токсичности мексидола на цыплятах-бройлерах / П.С. Рябцев, А.В. Святковский // Мат. III-го Междунар. конгр. вет. фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» - СПб, изд-во ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ». - 2014. - С. 221-223.
159. Рябцев, П.С. Влияние митофена на антиоксидантный статус и

- неспецифическую резистентность цыплят-бройлеров при синдроме гидроперикардита кур / П.С. Рябцев, А.В. Святковский, А.Н. Сёмина, А.А. Слободянюк // Научные проблемы и современные тенденции развития общественного животноводства в условиях ВТО: Мат. Всеросс. науч.-практич. конф. (20-21 июня 2013 г., г. Новочеркасск, ГНУ СКЗНИВИ РАСХН) – Новочеркасск. - 2013.- С. 78-82.
160. Савченко, А.А. Витамины как основа иммунометаболической терапии / А.А Савченко, Е.Н. Анисимова, А.Г. Борисов, А.Е. Кондаков. - Красноярск: Изд-во КрасГМУ. - 2011. - 213 с.
161. Садовников, Н.В. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов / Н.В. Садовников, Н.Д. Придыбайло, Н.А. Верещак, А.С. Заслонов. – Екатеринбург-Санкт-Петербург: Уральская ГСХА, НПП «АВИВАК» - 2009.- 85с.
162. Сапин, М.Р. Иммунная система человека / М.Р. Сапин, Л.Е. Этинген - М.: Медицина. - 1996. - 304 с.
163. Саратиков, А.С. Влияние экстракта левзеи софлоровидной на координацию движений, определение оптимальных доз и длительности действия // А.С. Саратиков, С.Ф. Тузов // Уч. зап. Томск, пед. институт — 1961 - Т.20 - №3. - С. 190-196.
164. Саратиков. А.С. Родиола розовая / А.С. Саратиков, Е.А. Краснов – Томск: изд. Томского ун-та. - 1987.— 252 с.
165. Святковский, А.А. Применение митофена с кормом курам-несушкам и его влияние на показатели качества куриного яйца / А.А. Святковский, Н.Л. Андреева // Международный вестник ветеринарии – 2015. - №4. - С. 21-26.
166. Святковский, А.А. Влияние митофена на рост симбионтной микрофлоры / А.А. Святковский, Л.А. Дзявго, А.В. Святковский // Мат. междунар. н.-п. конф. «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве» 30-31 октября 2014 г. – СПб: изд-во «Любавич». - 2014. - С.176-178
167. Святковский, А.В. Использование митофена для профилактики

- микотоксиноз цыплят-бройлеров / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, Е.С. Базова, А.А. Слободянюк // Мат. Международ. науч-практ. конференции 7-8 июня 2011 - СПб. - 2011. – С.139-142.
168. Святковский, А.В. Определение оптимальных доз митофена при выращивании цыплят / А.В. Святковский, П.С. Рябцев // Мат. IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации» – 2013. - С. 504-508.
169. Святковский, А.В. Перспективы применения полифенольных антигипоксантов в ветеринарии //А.В. Святковский // Тез. конф. «X Балтийский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности 2014» - СПб. - 2014. - С. 176-177.
170. Святковский, А.В. Влияние антиоксиданта полифенольной природы на продуктивность птицы / А.В. Святковский, И.Д. Ещенко // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных и птиц. - 2010. - С. 393-395.
171. Святковский, А.В. Использование антиоксиданта триофена в звероводстве / А.В. Святковский, Ю.В. Медведев // Ветеринарная Практика. - 2010. - №1 (48). - С.34-41.
172. Святковский, А.В. Яичная продуктивность и качество яиц кур при изучении хронической токсичности антиоксидантов митофена и мексидола / А.В. Святковский, П.С. Рябцев / Матер. V Междунар. съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов «Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии». - Витебск, 26-30 мая 2015.- С. 347-350
173. Святковский, А.В. Кормовая добавка Клим при хронической интоксикации / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, Е.С. Базова, А.А. Слободянюк // Птицеводство. - 2010. - №10. - С.25-26
174. Святковский, А.В. Влияние кормового комплекса фунгитокс на организм

- бройлеров / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, Е.С. Базова, А.А. Слободянюк // Междунар. науч.-практич. конф. «Биотехнология: токсикологическая, радиационная, и биологическая безопасность». – Казань. - 2010. - С. 541-543
175. Святковский, А.В. Изучение острой токсичности антиоксидантов митофена и мексидола / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, Ю.В. Медведев, М.Г. Романов // Ветеринарная Практика. – 2011. - №1(52). - С. 48-49.
176. Святковский, А.В. Влияние кормовой добавки с митофеном на качество куриных яиц при хранении / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, А.А. Святковский // Птица и птицепродукты. – 2015. - №6. – С. 34-36.
177. Святковский, А.В. Применение препарата БИУМ с целью повышения яичной продуктивности кур / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, А.А. Святковский // Матер. междунар. н.-п. конф. «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве» 30-31 октября 2014 г. – СПб: изд-во «Любавич». - 2014 - С.174-176
178. Святковский, А.В. Применение кормовой добавки с митофеном цыплятам / А.В. Святковский, П.С. Рябцев, А.А. Слободянюк, А.А. Святковский // Матер. междунар. агропром. конгр. «Перспективы инновационного развития агропромышленного комплекса и сельских территорий» - СПб. - 2014. - С.85-87.
179. Святковский, А.В. Фармакологическое воздействие на антиоксидантную систему живого организма / А.В. Святковский, А.А. Слободянюк, Е.С. Базова // Ветеринарная Практика. - 2011. - №3(54). - С. 41-46.
180. Святковский, А.В. Изучение токсичности мексидола для куриных эмбрионов и цыплят / А.В. Святковский, А.А. Слободянюк, П.С. Рябцев // Матер. междунар. н.-п. конф. «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве» 30-31 октября 2014 г. – СПб. – 2014. – С. 171-174.
181. Святковский, А.В. Исследование подострой токсичности митофена на птице / А.В. Святковский, А.А. Слободянюк, П.С. Рябцев, Е.С. Базова // Матер. XVII Междунар. конф. ВНАП «Инновационные разработки и их

- освоение в промышленном птицеводстве». - Сергиев Посад. - 2012. - С. 609-611.
182. Святковский, А.В. Влияние митофена на здоровье и продуктивность птицы / А.В. Святковский // Матер. междунар. агропром. Конгресса: «Модернизация АПК – механизмы взаимодействия государства, бизнеса и науки» - СПб.: Ленэкспо. - 2011. – С. 18.
183. Святковский, А.А. Антиоксидантный статус и неспецифическая резистентность у цыплят-бройлеров при сочетанном применении Митофена и ветохита / А.А. Святковский, П.С. Рябцев, А.В. Святковский / Матер. IV-го междунар. конгр. ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» - СПб. – 2016. – С.167-168.
184. Селезнев, С.Б. Структурная характеристика иммунной системы птиц / С.Б. Селезнев //Актуальные вопросы морфологии и хирургии XXI века. – Оренбург. -2001 .- С. 250-253
185. Селезнев, С.Б. Морфологические параллели в топографии и структурной организации иммунной системы птиц и млекопитающих / С.Б. Селезнев // Вести. Рос. ун-та дружбы народов. Сер. Агрономия и животноводство. - 2003.- №10. - С. 72-76.
186. Селезнев, С.Б. Общие закономерности строения и развития органов иммунной системы птиц / С.Б. Селезнев // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов, Сер. с.-х. науки. Животноводство. - 1996. - №2. - С. 30-33.
187. Селезнев, СБ. Постнатальный органогенез иммунной системы птиц и млекопитающих (эволюционно-морфологическое исследование): автореф. дис... д-ра вет. наук: 16.00.02 /Сергей Борисович Селезнев - Иваново, 2000. - 27 с.
188. Селье, Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г.Селье М.: Медгиз, 1969.-254 с.
189. Селье, Г. Стресс без дистресса. / Г. Селье. М.: Прогресс. - 1979. - С. 6-50

190. Селье, Г. Стресс жизни / Г. Селье.- М.: Наука. - 1956. С. 7-67.
191. Сёмина, А.Н. Уровень цитокинов в сыворотке крови цыплят после введения иммуномодулятора беталейкина и вакцины против болезни Марека / А.Н. Сёмина, Н.Д. Придыбайло, А.С. Симбирцев, А.В. Петров // Матер. II Междунар. конгр. Ветеринарн. Фармакологов и токсикологов – СПб. – 2012. – С. 238-240
192. Сёмина, А.Н., Влияние беталейкина и бестима на иммунную и антиоксидантную системы организма птицы / А.Н. Сёмина, А.В. Святковский, П.С. Рябцев // Матер. II Междунар. конгр. Ветеринарн. Фармакологов и токсикологов – СПб. – 2012. – С. 240-242.
193. Семина, А.Н. Уровень цитокинов у цыплят при воздействии патогенного и вакцинного вируса болезни Марека в сочетании с иммуномодулятором беталейкином: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Анна Николаевна Семина - СПб, 2013, - 23 с.
194. Слободянюк, А.А. Изучение токсического воздействия мексидола на организм кур-несушек / А.А. Слободянюк, А.В. Святковский, П.С. Рябцев [и др.] // Матер. Межд. Науч.-практ. конференции 7-8 июня 2011, СПб. - 2011. – С..137-139
195. Смирнов, П.Н. Естественная резистентность организма животных и человека: история вопроса / П.Н. Смирнов // Матер. VIII Сибирской ветеринарной конф. «Актуальные вопросы ветеринарной медицины». – Новосибирск. - 2008. - С. 254-258.
196. Смолов, С.В. Состояние органов иммунной системы у эмбрионов и цыплят в зависимости от температурных условий инкубации яиц: автореф. дис...канд. с.-х. наук 06.02.04 /Сергей Вячеславович Смолов - Сергиев Посад, 2002. -19 с.;
197. Соколов, В.Д. Новый биологически активный препарат - маримикс // В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева, О.С. Попова // Международный вестник ветеринарии. - 2011. - № 1. - С. 6-10.

198. Соколов, В.Д. Иммуностимуляторы в ветеринарии / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева, А.В. Соколов // Ветеринария. - 1992. - №7/8.- С.49-50.
199. Соколов, В.Д. Молочная кислота как кормовая добавка / В.Д. Соколов, Н.Л.Андреева [и др.] // Птицеводство. –1995. –N 25. – С.17-18.
200. Соколов, В.Д. Теория и практика использования иммуномодуляторов в ветеринарии / В.Д. Соколов // Тез докл. 1-ой межвуз. науч.-практ. конф. "Новые фармакологические средства в ветеринарии"- 1989.- С. 43-44
201. Соколов, В.Д. Фармакологическая и физическая коррекция стрессов и продуктивности животных / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева. - 1990.-62 с.
202. Соколов, В.Д. Фармакологическая коррекция стресса / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева // Ветеринария. - 1989. - № 5. - С. 61-64.
203. Соколов, В.И. Цитология, гистология, эмбриология / В.И. Соколов, Е.И. Чумасов - М.: Колос. - 2004.-351 с.
204. Соколова, Л.Н. Влияние витаминных дрожжей на использование питательных веществ корма у цыплят / Л.Н. Соколова, С.Н. Хохрин, А.В. Смирнова // Матер. 5-ой межвуз. науч.-практ. конф «Новые фармакологические средства в ветеринарии», СПб. - 1993. - С. 93
205. Сосновская, Т.А. Изамбен птицеводству / Т.А. Сосновская // Известия академии аграрных наук республики Беларусь. - 1999. - №2. - С. 82-85.
206. Суколинский, В.Н. Перспективы применения антиоксидантов в комбинированном лечении злокачественных опухолей / В.Н. Суколинский // Вопросы онкологии. - 1990. - Т.36. - № 2. - С. 138-144.
207. Сухинин, А.А. Повышение эффективности вакцинопрофилактики вирусных инфекций птиц с помощью липосом и иммуностимуляторов / А.А. Сухинин // Матер. XIV междунар. межвуз. науч.-практич. конф. "Новые фармакологические средства в ветеринарии". - Санкт-Петербург. - 2002. - С.90.
208. Сухинин, А.А. Применение этимизола для повышения естественной резистентности в условиях температурного стресса / А.А. Сухинин //

- Передовой научно-производственный опыт в птицеводстве. - 1986. - №10 - С.18-20.
209. Сухинин, А.А. Влияние транспортировки на уровень естественной резистентности птиц / А.А. Сухинин, Л.С.Колабская, Л.Л.Шорникова, В.Д. Попова // Передовой научно-производственный опыт в птицеводстве. - 1986. - №8 - С. 22-25.
210. Сухинин, А.А. Влияние этимизола и нуклеината натрия на формирование поствакцинального иммунитета при инфекционном ларинготрахеите птиц / А.А. Сухинин, Л.П. Чебанова // Сб.науч.тр. ВНИВИП Современные средства и методы борьбы с заразными болезнями с/х птиц. – 1987. - С. 45-47.
211. Сухинин, А.А. Влияние этимизола на биохимические и иммунобиологические показатели крови цыплят при стрессе; иммуностимулирующие свойства этимизола: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04, 16.00.04/ Александр Александрович Сухинин. - Л., 1989. – 136с.
212. Сухинина, Т.Л. Биохимическая и иммунологическая характеристика экспериментального иммунодефицита птиц и его коррекция пептидными препаратами: автореф. дис. ... канд.биол.наук. 03.00.04. /Татьяна Леонидовна Сухинина – СПб, 1992. - 18 с.
213. Тазулахова, Э.Б. Роль макрофагов в продукции интерферона / Э.Б. Тазулахова, М.В. Мезенцева, .И. Ершов Ф // Антибиотики и химиотерапия. - 1990. - №11. - С.40-44.
214. Триполитова, А.А. Влияние препаратов золотого корня на иммунологическую реактивность организма / А.А. Триполитова, Ю.Г. Козлова, Т.Н. Михайлова // Стимуляторы центр, нервной системы. – 1968. - № 2. - С. 143-146.
215. Триполитова, А.А. Характеристика некоторых иммунологических показателей организма на фоне действия препаратов золотого корня / А.А. Триполитова, З.П. Бекетова, Л.Д. Воронина [и др.] // Стимуляторы центр,

- нервной системы. - 1966.- С. 859
216. Тузова-Юсковец, Р.В. Классическая и современная иммунология / Р.В. Тузова-Юсковец, Н.А. Ковалев // Белорусская наука. - 2006. - 692 с.
217. Указ Президента РФ от 30.01.2010 № 120 Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации – М., Кремль 30 января 2010 г.
218. Утешев, Д.Б. Перспективы применения б-каротина как иммуностропного препарата / Д.Б. Утешев, А.В. Сергеев, Б.С. Утешев // Иммунология. – 1998. - №. 4. – С. 17-19.
219. Федоров, Ю.Н. Иммунодефициты домашних животных / Ю.Н. Федоров, О.А. Верховский - М. - 1996. - 95 с.
220. Федотов, В.П. Влияние ультрафиолетового облучения на естественную резистентность кур / В.П. Федотов, Ю.А. Павлюченко, Е.В. Пудовкина // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2009. - № 9(59). - С. 57-59.
221. Фисинин, В.И. Промышленное птицеводство России: состояние, инновационные направления развития, вклад в продовольственную безопасность / В.И. Фисинин // V межд. ветеринарный конгресс по птицеводству. – 2009. – С. 5-26.
222. Фисинин, В.И. Птицеводство России – стратегия инновационного развития / В.И. Фисинин - М. – 2009. - 148с.
223. Фрейдлин, И.С. Загадки тимуса. Возраст и иммунитет / И.С. Фрейдлин // Соросовский образовательный журнал. - 1997. - №5. - С. 5-8.
224. Хаитов, Р.М. Экологическая иммунология / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, Х.И. Истамов. - М.: Изд-во ВНИРО. - 1995. - 219 с.
225. Хаитов, Р.М. Иммуногенетика и биобезопасность / Р. М. Хаитов, Л.П. Алексеев - М. : Миттель-Пресс. - 2014. - 232 с.
226. Хённинг, А.П. Эрготропики: регуляторы обмена веществ и использования кормов сельскохозяйственными животными / А.П. Хённинг –

- М.: Агропромиздат. - 1986. - 344 с.
227. Хеннинг, А.П. Минеральные вещества, витамины, биостимуляторы в кормлении сельскохозяйственных животных / А.П. Хеннинг. - М.: Колос. - 1976. - С. 7-256.
228. Чеботкевич, В.Н. Методы оценки состояния иммунной системы и факторов неспецифической резистентности в ветеринарии / В.Н. Чеботкевич, С.И. Лютинский. - СПб. - 1998. - 30 с.
229. Шатилов, А.В. Роль антиоксидантов в организме в норме и при патологии / А.В. Шатилов, О.Г. Богданова, А.В. Коробов // Ветеринарная патология. – 2007. - №2. – С. 207- 211.
230. Шевченко, А.И. Физиолого-биохимический статус, естественная резистентность, продуктивность мясной птицы и их фармакокоррекция пробиотиками и синбиотиками: дис. ... докт. биол. наук: 03.03.01, 06.02.03 / Антонина Ивановна Шевченко. — Новосибирск, 2010. — 288с.
231. Шитый, А.Г. Антистрессовые препараты в животноводстве / А.Г. Шитый. - Алма-Ата: Кайнар. - 1981.- 128 с.
232. Шмидт-Ниельсен, К. Физиология животных / К. Шмидт-Ниельсен М.: Мир. – 1982. - 416с.
233. Щепеткина, С.В. Влияние пробиотика мультибактерин ветеринарный Омега-10 на продуктивность и естественную резистентность поросят при инфекционных желудочно-кишечных болезнях: дисс. ... канд. вет. наук: 16.00.03. / Светлана Владимировна Щепёткина - СПб, 2002.- 173 с.
234. Якубовский, М.В. Новый комплексный препарат «Янсевит» и влияние его на организм телят при криптоспориidioзе. / М.В. Якубовский, Н.Ю. Щемелева, О.П. Пахноцкая // Матер. V Междунар. съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов «Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии». - Витебск, 26-30 мая, 2015. - С. 183-186
235. Ярилин, А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в

- норме и при патологии / А.А. Ярилин // Иммунология. - 1997. - №5. - С. 7 - 14.
236. Ясюнас, В. Влияние обогащенных антиоксидантами комбикормов на рост цыплят / В. Ясюнас // Эффективные методы повышения продуктивности мясных кур: Науч. тр. прибалт, зональной опытной станции по птицеводству. – Вильнюс. -1985. - С.34-35.
237. Яшин, А.В. Гиповитаминоз С у новорожденных телят: дисс. ... канд. вет. наук 16.00.01 / Анатолий Викторович Яшин - Л., 1984 – 246 с.
238. Aschkenazy, A. Dietary protein and amino acids in leucopoiesis. / A. Aschkenazy // *World Rev.Nutr.Diet.* - 1975. - Vol. 21. - № 1. - P. 152-194.
239. Beisel, W.R. Nonspecific host factors-a review / W.R. Beisel // *Malnutrition and the immuneresponse.* NeW Vork. - 1977. - P. 341-354.
240. Bhargava, W.J. Effects of chicks infected With Newcastle disease virus / W.J. Bhargava, R.P. Hanson, M.L. Sunde // *J Nutr.* - 1970. - Vol 100. - № 1. - P. 241-248.
241. Cesta, M.F. Normal structure, function, and histology of the spleen / M.F. Cesta // *Toxicologic Pathology.* - 2006. - Vol. 34. - №5. - P. 455-465.
242. Cesta, M.F. Normal structure, function, and histology, of mucosa-associated lymphoid tissue M.F. Cesta // *Toxicologic Pathology.* - 2006. - Vol. 34. - №5. - P.599-603.
243. Chew, B.P. Witamin A and b-carotene on host defense / B.P. Chew // *J. Dairy Sc.*, 1987. - Vol. 70. - №12. - P. 2732-2743.
244. Elmore, S.A. Enhanced histopathology of mucosa-associated lymphoid tissue / S.A. Elmore // *Toxicologic Pathology.* - 2006. - Vol. 34. - №5. - P. 687-696.
245. Evans, A. J. The growth of fat. / A.J. Evans. // In: *Growth and poultry meat production* Edinburgh. Scotland. - 1977. - P. 29-64 .
246. Garside, P. The anatomy of mucosal immune responses / P Garside, O. Miffington, K.M Smith // *Annals of the New York Academy of Sciences.* - 2004. - Vol.1029.-P. 9-15..]

247. Glick, B. The bursa of Fabricius: the evolution of a discovery // Poultry Science. - 1994. - Vol. 73. - №7. - P. 979-983.
248. Griffin, H. Manipulation of lipid metabolism in poultry / H. Griffin, D. Windsor, D. Burt et al. // Proc, 10th Europ. poultry conf Jerusalem. - 1998.-P. 12-15.
249. Heine, H. Gesundheit-Krankheit-Stress / H. Heine. // Biol. Med. -1997. -P 26.
250. Heine, H. Grundlagen der Regulatinsmedizin. / H. Heine // Arztezeitschrift fur Naturheilverfahren. Biol. Med. -2000. - P. 41, 82-93.
251. Huether, G. Psychische Belastung und neuronale Plastizitat. / G. Huether. // In: Kropiuning U., Stacher A. Ganzheitsmedizin und Psychoneuroimmunologie. / Wien: Vierter Wiener Dialog, Facultas. - 1997.- 117 p.
252. Kenney, M. A. Dietary amino acids and immune response in rats. / M. A.Kenney, J.L. Magee, F. Piedad-Pascual. // J. Nutr. - 1970. - Vol 100. - № 5.-P. 1063-1072.
253. King, A.S. McLelland. Les oiseaux structure et fonction (Birds their structure and function). / A.S. King. L.- 1984. - P. 32-40.
254. Miller, J. Immunological function of the thymus // Austral Soc. Exp. Bid. Proc.: Extend, abort. Open. Addreas publ. sesa Plenary Leet and Symp. pre-sentat ASEB Nut., Febr., 7-10. - 1988. - P. 72-75.
255. Munck, A. Physiological function of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological action // Endocrinol. – 1984. - Rev.5. - No. 1. - P, 25–44.
256. Ohshima, K. Immunohistochemical localization of three different immunoglobulin classes in the Harderian gland of young chickens // Tissue and Cell. - 2002. - Vol. 34. - P. 129-33
257. Panda, S.K. Effect of vitaminum E–selenium combination on chickens infected with infectious bursal disease virus / S.K. Panda, A.T. Rao // Vet. Rec. – 1994. – Vol. 134. - №10. – P. 242-243.
258. Paramithiotis, E. Bursa-dependent subpopulations of peripheral B lymphocytes in chicken blood // European Journal of Immunology.-1993.- Vol. 23. - №1.- P.

96-102

259. Pearse, G. Normal structure, function and histology of the thymus // *Toxicologic Pathology*. - 2006.- Vol. 34. - №5. - P. 504-514.
260. Rueckert, K.H. A new study that proves great effectiveness of a special extract made from first class Korean Ginseng roots / K.H. Rueckert. *Sympos of gerontology*. Lugano. - 1975. - P.35-45.
261. Sayegh, C.E. B cell development: lessons from transgenic models // *Veterinarian Immunology and Immunopathology*. - 1999. - Vol. 72. - №1-2. - P. 31-37.
262. Selye, H. A syndrome Produced by Divers Nocuous Agents. / H. Selye. // *Nature*. – 1936. - vol. 138. - № 3479. - P. 32-40.
263. Selye, H. *Hormones and Resistance*. 2. vols / H. Selye. New York, Heidelberg, Berlin, Springer-Verlag. - 1971. - P. 34-78
264. Selye, H. *Stress and Aging* / H. Selye. // *J. Amer. Geriat. Soc.* - 1970. -P. 18, 669-680.
265. Selye, H. *The evolution of the stress concept-stress and cardiovascular disease*. / H. Selye.- London, New York: Oxford University Press. -, 1971.-P. 67.
266. Selye, H. *The Stress of Life* / H. Selye.- New York, Toronto, London, McGraw Hill Book Co., Inc. - 1956. - P. 5-37.
267. Surai P.F. Y.E. Effects of mycotoxins on antioxidant status and immunity. In: *The Mycotoxin Blue Book* / D.E. Diaz (ed.). Nottingham University Press. – 2005. – P. 93-137.
268. Tewes, U. *Konzepte der Psychologie* / In: Schedlowski M. Tewes U. (Hrsg.). / U. Tewes // *Psychoneuroimmunologie*. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag. - 1996.- P. 137-162.
269. Tsiagbe, V. K. The effect of choline supplementation in growing pullet and laying hen diets / V.K. Tsiagbe, C.W. Kang, M.L. Sunde. // *Poultry Sci.* -1982. Vol. 61. - № 12.- P. 2060-2064.
270. Vila, B. Probiotic micro-organisms: 100 years of innovation and efficacy;

- modes of action / B. Vila, E. Esteve-Garcia, J. Brufau, - World's Poultry Science Journal. – 2010. - Vol. 65. - p. 369-380
271. Waldschmidt, T. Fc-receptors on B-cells mediate down-regulation of antibody secretion / T. Waldschmidt, E.S. Vitetta. // Ann. Inst. Pasteur: Immunol. - 1985. Vol. 136 . - № 3.- P. 417-420.]
272. Wolcorr, D. Neuropeptides and the innervation of the avian lacrimal gland // Investigative Ophthalmology and Visual Science. - 2000.- Vol. 30.- №7.- P. 1666-1674.
273. Yasuda, M. A comparative study of gut-associated lymphoid tissue in calf and chicken The Anatomical / M. Yasuda // Record.-2002.-Vol.266.-№4.- P. 207-217.