

УДК 59

КРИСТАЛЛОСКОПИЧЕСКИЕ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ОЦЕНКЕ САНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ФИТОКОМПОЗИЦИЙ ПРИ СПОНТАННЫХ НЕМАТОДОЗАХ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ

Жданова О. Б., доктор биологических наук, доцент¹
Часовских О. В. кандидат биологических наук, доцент¹
Мартусевич А. К., доктор биологических наук, профессор²
Ивашкина Н. С., аспирант¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Вятский государственный агротехнологический университет», г. Киров, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Нижегородский государственный агротехнологический университет им. Л. Я. Флорентьева»,

г. Нижний Новгород, Россия

E-mail: beoli@mail.ru

Аннотация

В статье представлен краткий обзор литературных источников, содержащих исследования лишайников и других, используемых в качестве лекарственных, натуральных компонентов. Приведены результаты исследования нематодной инвазии лабораторных мышей и крыс в вивариях г. Кирова за 2022-2025 гг. Представлены результаты гельминтологических, кристаллоскопических и гематологических исследований двух композиций на основе механически обработанного лишайника рода *Cladonia* (ягель) и механически обработанного лишайника рода *Cladonia* (ягель), *Tanacetum vulgare* (пижма обыкновенная), *Aspen cortice* (осины кора), *Artemisia cina* (полынь цитварная) в соотношении 3:1:1:1.

Ключевые слова: лабораторные животные, нематодозы, лишайник, фитопрепараты, гематологические показатели, биокристалломика

CRYSTALLOSCOPIC AND HEMATOLOGICAL METHODS IN EVALUATING THE PHYTOCOMPOSITIONS SANOGENETIC EFFECTS IN SPONTANEOUS NEMATODES OF LABORATORY RODENTS

Zhdanova O. B., doctor of biological sciences, associate professor¹

Chasovskikh O. V. candidate of biological sciences, associate professor¹

Martusevich A. K., doctor of biological sciences, professor²

Ivashkina N. S., post-graduate student¹

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

«Vyatka State Agrotechnological University», Kirov, Russia

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

«Nizhny Novgorod State Florentyev Agrotechnological University», Nizhny Novgorod, Russia

E-mail: beoli@mail.ru

Annotation

The article provides a brief overview of the literature sources containing studies of lichens and other natural ingredients that have been used as medicinal natural ingredients. The results of studying nematode invasion of laboratory mice and rats in Kirov vivariums for 2022-2025 are presented. The authors also present the results of helminthological, crystalloscopic and hematological studies of two compositions on the basis of mechanically treated lichen of the genus *Cladonia* (yagel) and mechanically treated lichen of the genus *Cladonia* (yagel), *Tanacetum vulgare* (common tansy), *Aspen cortice* (aspen bark), *Artemisia cina* (wormwood) in a ratio of 3:1:1:1.

Keywords: laboratory animals, nematodes, lichen, phytocompositions, hematological parameters, biocrystallomics

Введение. В последние годы XXI века наблюдается повышенный интерес к грызунам не только как лабораторным животным, но и как к домашним любимцам. В соответствии с потребностью общества в удовлетворении эстетических потребностей был применен опыт ученых-селекционеров, что привело к выведению различных пород декоративных мышей и крыс. Также в стороне не осталась и научная отрасль: для нужд науки были выведены чистые линии лабораторных грызунов с известным кариотипом. Однако интерес общества к мышам и крысам как к домашним питомцам не отражает образованность владельцев в вопросах содержания, ухода и проведения обязательных в ветеринарном отношении мероприятий. Это может быть связано как с отсутствием необходимой нормативно-правовой базы, отражающей необходимый перечень ветеринарно-санитарных мероприятий (рекомендации, наставления и методики), так и с низкой культурой содержания лабораторных и комнатных животных [1].

Немаловажную роль в изучении данного вопроса играет и повышение резистентности возбудителя паразитарных заболеваний на разных этапах его развития к химическим соединениям, обладающим антигельминтной активностью. Данный вопрос беспокоит ученых с 60-х годов XX столетия. Исследования того времени показывали снижение эффективности

антигельминтных препаратов. Проводимые в течение 30 лет исследования привели к закреплению запрета на свободный оборот антигельминтиков на территории большинства европейских стран, а также стран Южной и Северной Америки [2].

На современном этапе развития химических соединений, обладающих антигельминтной активностью, наиболее известны такие действующие вещества, как бензимидазол и его производные (альбендазол, мебендазол и другие). На данный момент известно, что устойчивость к препаратам данного ряда находится в гене, кодирующем структуру такого белка как р-тубулин [6, 18, 19]. Для группы макроциклических лактонов характерна мутация в генах, несущих информацию о коннекسينах, которые входят в состав щелевых контактов. Мутация изменяет структуру белка, что, в свою очередь, приводит к невозможности развития паралича [6]. Для антагонистов н-холинорецепторов – имидазотиазола и тетрагидропиримидина (левамизол, пирантел и другие) – также характерна картина изменения последовательности нуклеотидов в генах, кодирующих субъединицы никотинчувствительных холинорецепторов [2, 12-18].

Таким образом, изыскание новой стратегии использования химических соединений, применяемых в качестве антигельминтных, с последовательной разработкой новых антигельминтных композиций на основе растительного сырья может дать толчок к развитию натуропатических составов с противопаразитарными свойствами. Создание композиций из двух и более веществ с антигельминтным профилем действия с добавлением в схему лечения иммуностимулирующих веществ даёт возможность не только добиться поставленной цели, но и позволит нам регулировать иммунный ответ животного на возбудителя паразитарного заболевания.

Одним из перспективных направлений развития натуропатических препаратов с противопаразитарными свойствами могут послужить научные изыскания в отношении вытяжек и экстрактов из таких лекарственных растений, как *Tanacetum vulgare* (пижма обыкновенная), *Aspen cortice* (осины кора), *Artemisia cina* (полынь цитварная), и механически обработанных лишайников. Последние интересны своими соединениями вторичного обмена. Для выживания в суровых условиях арктического и антарктического региона, а также других сложных климатических зонах, лишайники синтезируют алифатические, циклоалифатические, гетероциклические и терпеновые соединения, составляющие до 30 % сухого вещества таллома. В состав лишайников также входят такие важные для исследования соединения, как биологически активные вещества (лихениналанин, лизин, тирозин, триптофан, пектины), ферменты (амилаза, каталаза, лихеназа, инвертаза) и витамины. Вызывают некоторый интерес и атранорин, фумарпротоцетгариновая, гирофоровая, леканоровая, салациновая и усниновая кислоты [8-10].

Народная медицина широко использовала лишайники для лечения и профилактики заболеваний дыхательной и пищеварительной системы. На данный момент исследования антибактериальных свойств этих сложных организмов ведутся на территории Союзного государства, в ряде северных стран Европейского союза, а также в Индии, Японии и Китае. Скрининговые исследования в этой сфере дают информацию о том, что только 70-100 видов лишайников имеют выраженные антимикробные свойства, хотя более чем у половины всех исследованных видов такие свойства отмечались. В настоящее время исследования действующих веществ, выделенных из лишайников, ведутся на растительных моделях, крайне редко они используются в качестве антимикробных соединений для лечения животных. Исследования противопаразитарных и иммуностимулирующих свойств в ветеринарии практически не изучались [8, 13-16].

В 40-х годах XX века (1947 г.) в научных кругах Германии была представлена смесь эверниевой и усниновой кислот – «Эвозин». Через 5 лет (1952 г.) немецкие ученые испытали следующее поколение данного препарата – «Эвозин-2» – атранорин, физодовая, капеатовая и усниновая кислоты. В этот же период (1948-1954 гг.) испанские ученые испытали комбинированный препарат на основе лишайников – уснимицин – смесь усниновой кислоты

и стрептомицина. К 1954 году ученые Японии представили свой препарат на основе лишайников – «Уснин». В конце 40-х годов XX века на территории СССР, в Ленинграде, был получен такой препарат, как «Бинан», – натриевая соль усниновой кислоты. Все эти композиции использовались для лечения местных кожных заболеваний, мастита, актиномикоза и других гнойных и полиэтиологичных болезней. Данные препараты также очень хорошо показали себя против грамположительных бактерий и грибов [8, 10].

В условиях импортозамещения синтетических химических соединений фармакологических компаний в авангард исследований выходят натуральные составы из отечественного сырья. Одним из перспективных направлений развития выступают фитопрепараты, в том числе и на основе лишайников. В общей сложности на территории Кировской области зарегистрировано порядка 200 видов лишайников. Некоторые из видов занесены в Красную книгу Российской Федерации и находятся под охраной – их сбор и использование строго регулируются [1, 8].

Методика. Исследования проводились на базе вивариев при высших учебных заведениях г. Кирова с сентября 2022 по ноябрь 2025 года. Объектом исследования служили лабораторные животные (белые мыши и крысы). Животные содержались в условиях, соответствующих ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» на стандартном рационе. До, во время и после окончания исследований были произведены отборы проб фекалий для гельминтологического исследования по методу Фюллеборна, взяты перианальные соскобы по методу Грэхема на липкую ленту и предметное стекло. Во время исследования проводили эвтаназию лабораторных животных для частичного гельминтологического исследования по Скрыбину. Половозрелых особей гельминтов извлекали и помещали в физиологический раствор с последующей фиксацией в 50 %-м растворе глицерина. Подсчет количества гельминтов производили на отрезке кишечника длиной 5 см. В качестве математического и статистического подхода использовался расчет экстенсивности инвазии (ЭИ) и интенсивности инвазии (ИИ) [3, 4, 10, 20, 21].

После подтверждения диагноза сифациоз (*Siphacia obvelata*) (количество яиц составило 12 ± 4 в поле зрения) перианальным соскобом по методу Грэхема из инвазированных животных были сформированы 3 группы (всего 18 голов). В течение 7 календарных дней опытные животные получали со стандартным рационом порошок кладонии (1 г/кг). На 4, 7 и 10 день исследовали перианальные соскобы по методу Грэхема. Гематологические исследования проводили с использованием гематологического анализатора центра биомоделирования Кировского ГМУ (г. Киров) и Вятского ГАТУ (кафедра морфологии, микробиологии, химии и морфологии). Кристаллогенную активность сыворотки крови мышей изучали методом классической кристаллоскопии по ранее описанной технологии [4, 5]. Результат дегидратации фиксировали на цифровую фотокамеру, затем оценивали с качественных и количественных позиций (с использованием стандартного алгоритма, включающего балльные критерии) [3-5].

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты. При исследовании фекалий мышей и крыс по методу Фюллеборна были обнаружены яйца *Aspiculuris tetraptera* – эллипсоидной формы, оболочка двуслойная, тонкая, гладкая, зернистое содержимое. Также обнаруживались яйца рода *Siphacia* – ассиметричная форма, оболочка двуслойная, тонкая, гладкая, зернистое содержимое. При исследовании перианальных соскобов по методу Грэхема у всех исследуемых лабораторных животных были обнаружены яйца рода *Siphacia*. Часть животных была инвазирована обоими видами гельминтов. Экстенсивность инвазии нематодами лабораторных мышей была выше (70 %), чем лабораторных крыс – 60 % (таблица 1).

Таблица 1. Экстенсивность инвазии при заражении нематодами рода *Siphacia* в зависимости от сезона исследований (n = 20)

Сезон	Группы грызунов	
	мыши (n = 10)	крысы (n = 10)
Осенне-зимний	69,2±10,6	48,2±13,2
Весенне-летний	55,2±12,6	37,1±16,5

Таким образом, можно сделать вывод, что большая часть лабораторных животных (белые мыши и крысы) заражены нематодами *Aspiculuris tetraptera* и *Siphacia obvelata*. Между представителями рода *Siphacia* – *S. obvelata* и *S. muris* – наблюдаются ярко выраженные конкурентные отношения, наиболее часто встречаются нематоды *S. obvelata* в ассоциации с *A. tetraptera*, реже – с представителями отряда Цестоды.

Для определения противопаразитарной активности растительных компонентов (механообработанный лишайник рода *Cladonia* (ягель) и *Tanacetum vulgare* (пижма обыкновенная)) было сформировано 3 группы животных (n = 18) с подтверждённой инвазией гельминтами *Siphacia*. 1 группа (n = 6) служила контролем (положительный диагноз), 2 группа (n = 6) получала со стандартным рационом механически обработанный лишайник рода *Cladonia* (ягель) в дозе 1 мг/кг, 3 группа (n = 6) получала композицию из механически обработанного лишайника рода *Cladonia* (ягель), *Tanacetum vulgare* (пижма обыкновенная), *Aspen cortice* (осины кора), *Artemisia cina* (полынь цитварная) в соотношении 3:1:1:1 в дозе 1 мг/кг [3].

Мыши 2 группы, получавшие механически обработанный лишайник рода *Cladonia* (ягель), имели на 4-й день проведения опыта интенсивность инвазии (ИИ) на уровне 3±2 яйца в поле зрения, т. е. снижение ЭИ на 75 %. На 7-й день исследования только у одной мыши из данной группы был зарегистрирован сифациоз – 1 яйцо в 5 полях зрения. На 10-й день исследования все мыши данной опытной группы были свободны от инвазии. Также они были более активны и имели выраженный пищевой рефлекс по сравнению с контрольной группой инвазированных лабораторных животных, что подтверждается исследованиями и других авторов [3, 11-13].

Мыши 3 группы, получавшие композицию из механически обработанного лишайника рода *Cladonia* (ягель), *Tanacetum vulgare* (пижма обыкновенная), *Aspen cortice* (осины кора), *Artemisia cina* (полынь цитварная), уже на 4-й день исследования были полностью свободны от инвазии в отношении *Aspiculuris tetraptera* и рода *Siphacia*. На 7-й и 10-й день признаков инвазии обнаружено не было.

Таблица 2. Гематологические показатели лабораторных мышей до и после проведения опыта (n = 18)

Параметр	Референсные значения	Контрольная группа		Опытная группа (<i>Cladonia</i>)		Опытная группа (композиция)	
		до	после	до	после	до	после
Лейкоциты, $\times 10^{12}/л$	5,82-17,07	8,3±1,2	8,5±1,2	8,5±1,4	8,2±1,3	7,9±1,5	5,4±1
Лимфоциты, %	19,5-34,0	34,3±7,4	35,5±2,3	34,3±8,3	30,3±7,1	32,5±8,1	20,2±1
Моноциты, %	3-9	10,27±1,1	9,9±1,2	10,5±1,1	12,7±1,3	9,5±1,1	3,8±1,1
Гранулоциты, %	46-70	63,3±8,3	62,4±7,3	60,5±4,3	56,3±7,1	58±8,3	44,5±4,1

В тесте «Открытое поле» у мышей обеих опытных групп были отмечены более частые вертикальные стойки и быстрая нормализация поведения и более адекватные раздражителю реакции после проведения всех манипуляций (стресс-ситуации) по сравнению с лабораторными животными контрольной группы.

Несмотря на незначительные различия показателей эффективности дегельминтизации, у обеих опытных групп мышей отмечалась нормализация гематологических показателей (таблица 2, 3).

Отмечено, что под влиянием антигенов нематод существенно изменяется морфологический состав красной крови (уменьшается количество эритроцитов и уровень гемоглобина): после дачи фитопрепаратов наблюдали не только увеличение количества эритроцитов и гемоглобина, но и содержание гемоглобина в эритроците и средний объем эритроцита, что, по всей видимости, обусловлено как отсутствием конкуренции паразита за питательные вещества с хозяином, так и действием биологически активных веществ лишайника и композиции на гемопоэз у белых мышей опытной группы (таблица 3).

Таблица 3. Гематологические показатели лабораторных животных (мыши) до и после проведения опыта (n = 18)

Показатели красной крови	Референсные значения	Контрольная группа		Опытная группа (<i>Cladonia</i>)		Опытная группа (композиция)	
		до	после	до	после	до	после
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	3,56-11,07	3,85 $\pm$ 0,7	3,9 $\pm$ 0,3	3,85 $\pm$ 0,3	8,85 $\pm$ 1,3	4,2 $\pm$ 0,3	7,57 $\pm$ 0,9
Средний объем эритроцита, фл	54,9-65,8	47,2	46,7	47,2	50,5	48,5	54,5
Содержание гемоглобина в эритроците, пг	24,9-32,4	18,9	21,6	18,9	32,2	18,4	32,2
Гемоглобин, г/л	146,7-179,2	92	98	92	141	95	147,5

Таким образом, препарат, содержащий механически обработанный лишайник рода *Cladonia* (ягель), и композиция из механически обработанного лишайника рода *Cladonia* (ягель), *Tanacetum vulgare* (пижма обыкновенная), *Aspen cortice* (осины кора), *Artemisia cina* (полынь цитварная) в соотношении 3:1:1:1 обладают выраженным антигельминтным действием в отношении рода *Siphacia*. Также применение данных составов положительно влияет на гематологические показатели крови мышей опытных групп.

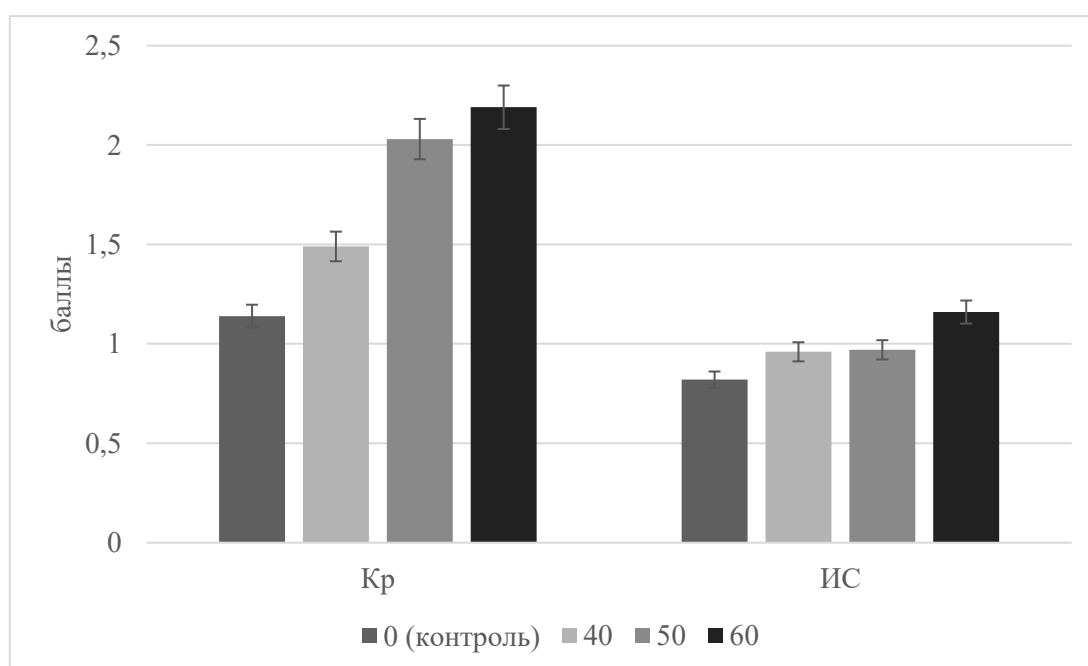


Рисунок 1. Особенности визуаметрических показателей кристаллограмм сыворотки крови мышей в зависимости от интенсивности инвазии

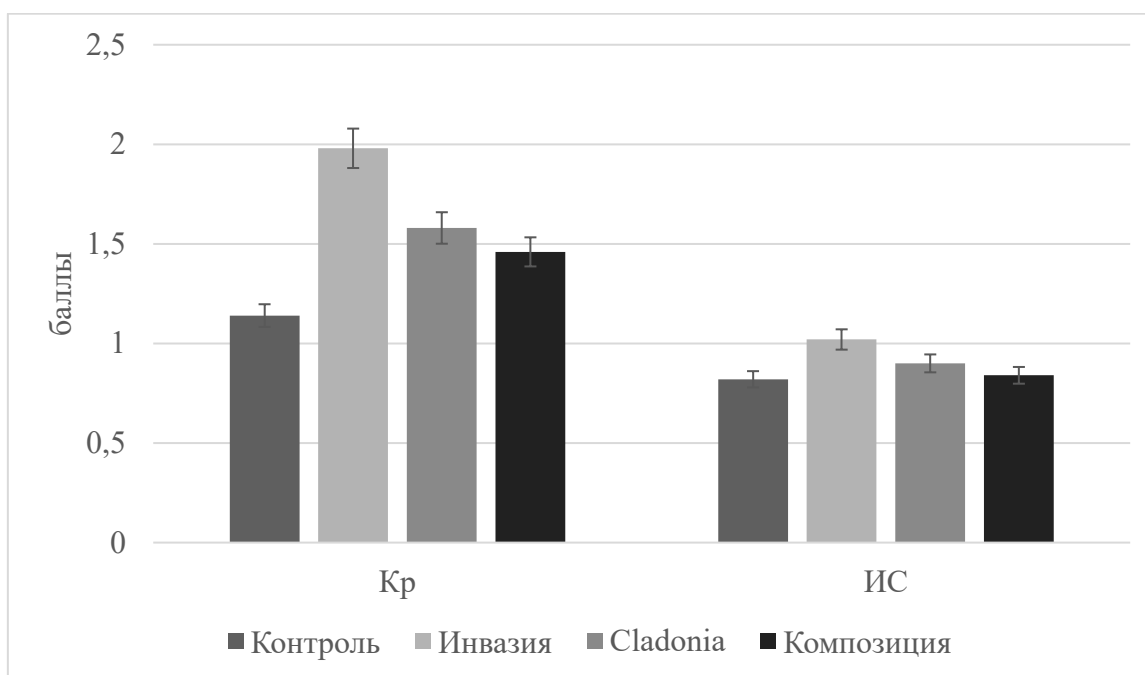


Рисунок 2. Динамика кристаллогенных свойств сыворотки крови мышей при использовании фитопрепаратов в моно- и комбинированном варианте

Дополнительно изучены кристаллогенные свойства сыворотки крови мышей в зависимости от интенсивности инвазии (ИИ). Установлено, что кристаллогенные свойства сыворотки крови мышей существенно зависят от ИИ, однако данная зависимость нелинейна. В частности, динамика индекса структурности и кристаллизруемости образцов (рисунок 1), являющихся количественной мерой активности собственного кристаллообразования биосреды и характеризующих сложность структуропостроения и плотность кристаллических элементов в микропрепарате соответственно, указывает на умеренное увеличение кристаллогенного потенциала биосубстрата при высокой ИИ.

Оценка характера дегидратационной структуризации сыворотки крови мышей свидетельствовала о позитивных сдвигах данного параметра, причем после дачи фитопрепаратов как в моно-, так и комплексном варианте установлена тенденция к нормализации по кристаллизруемости и по индексу структурности ($p < 0,05$ для обоих показателей относительно исходного уровня) (рисунок 2).

Выводы. Растительные препараты-нематодциды имеют явное преимущество перед химиотерапевтическими не только вследствие их относительной безопасности для окружающей среды и отсутствия защитных механизмов по отношению к ним у гельминтов, но и наличия выраженного эффекта активации гемопоэза. Однако широкому внедрению в практику дегельминтизаций и профилактики нематодозов у грызунов должны предшествовать комплексные исследования на эмбриотоксичность, гепатотоксичность, острую и хроническую токсичность моно- и комплексных фитопрепаратов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ашихмин С. П., Мартусевич А. К., Жданова О. Б. Азид натрия: некоторые физико-химические свойства и потенциальное место в дезинфектологии // Здоровье населения и среда обитания. 2012. № 4. С. 43-45.
2. Емельянова Н. Б., Курносова О. П. Влияние сифациоза на биохимические и клинические показатели крови лабораторных крыс // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16, № 3. С. 296-302.

3. Климова Е. С., Бабинцева Т. В. Паразитофауна лабораторных грызунов // Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2019. Т. 240, № 4. С. 105-108.
4. Мартусевич А. К., Жданова О. Б. Информативность исследования кристаллообразования при зоонозах на модели животных // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. 2006. № 1. С. 30-38.
5. Мартусевич А. К., Жданова О. Б., Янченко В. А. Патогенетическое значение изучения кристаллообразования биологических жидкостей при альвеококкозе // Анналы хирургической гепатологии. 2006. Т. 11, № 3. С. 50-51.
6. Распространение *Alaria alata* в Кировской области и некоторые особенности ее сокристаллизации с растворами дезинфектантов / О. В. Масленникова, О. Б. Жданова, А. К. Мартусевич [и др.] // Российский паразитологический журнал. 2010. № 3. С. 73-76.
7. Масленникова О. В., Ерофеева В. В., Пухляк В. П. Сифациоз грызунов и его эколого-эпидемиологическое значение // Фундаментальные исследования. 2014. № 9-7. С. 1542.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев [и др.]. 2-е изд., перераб. и доп. Москва : Медицина, 2005. 832 с.
9. Токарь В. В., Мусаев М. Б., Новик Т. С. Оценка острой токсичности двух противопаразитарных комбинированных препаратов из группы авермектинов и пиретроидов // Российский паразитологический журнал. 2025. Т. 19, № 1. С. 76-82.
10. Черепанов А. А. Дифференциальная диагностика гельминтозов по морфологической структуре яиц и личинок возбудителей. Москва : Колос, 2001. 76 с.
11. Understanding Microbial Multi-Species Symbioses / I. A. Aschenbrenner, T. Cernava, G. Berg, M. Grube // Front Microbiol. 2016. Vol. 7. P. 180.
12. Bennet A., Guyatt H. Reducing intestinal nematode infection: efficacy of Albendazole and Mebendazole // Parasitology Today. 2000. Vol. 16, № 2. P. 71-74.
13. Bialek R., Knobloch J. Parasitic infections in pregnancy and congenital parasitoses. II. Helminth infections // Z Geburtshilfe Neonatol. 1999. Vol. 203, № 3. P. 128-133.
14. Effect of mebendazole therapy during pregnancy on birth outcome / N. R. de Silva [et al.] // Lancet. 1999. Vol. 353. P. 1145-1149.
15. Frank-Kamenetskaya O., Vlasov D. Crystallization induced by fungi and bacteria // Acta Crystallogr B Struct Sci Cryst Eng Mater. 2025. Vol. 81, Pt. 1. P. 1-10.
16. A Review of Anti-Cancer and Related Properties of Lichen-Extracts and Metabolites / A. H. Tripathi, N. Negi, R. Gahtori [et al.] // Anticancer Agents Med Chem. 2022. Vol. 22, № 1. P. 115-142.
17. Santico R. Effects of chronic parasitosis on women's health // Int. J. Gynaecol. Obstet. 1997. Vol. 58, № 1. P. 129-136.
18. Progress in the prevention and control of schistosomiasis and soiltransmitted helminthiasis / L. Savioli [et al.] // Parasitol. Int. 2004. Vol. 53. P. 103-113.
19. Peterson E. Parasite and pregnancy // Abstract of XIth International Congress of Parasitology, Glasgow, Scotland. 2006. 6-11 Aug. P. 345.
20. Evaluation of the protective activity of different immunostimulatory drugs at the experimental trichinosis on white mice / O. V. Rudneva, L. A. Napisanova, O. B. Zhdanova, V. K. Berezhko // Journal of High Dilution Research. 2018. Т. 17, № 2. С. 17-18.
21. Evaluation of the effectiveness of different immunostimulatory medicine at the experimental trichinosis and leishmaniosis on white mice / O. B. Zhdanova, O. V. Rudneva, Yu. K. Akulinina, L. A. Napisanova // International Journal of High Dilution Research. 2019. Т. 18, № 2. С. 12.