

ЛОЗОВСКАЯ ЕВГЕНИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ
НАНОКОМПОЗИТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РАЗВИТИЕ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология
животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского» и в ФГБУН «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН»

Научный руководитель

доктор биологических наук, доцент, **Силкин Иван Иванович**

Научный консультант

кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, **Сухов Борис**

Геннадьевич

Официальные оппоненты:

Ханхасыков Сергей Павлович, доктор ветеринарных наук, доцент кафедры анатомии, гистологии и патоморфологии ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия имени В.Р. Филиппова»

Родионова Любовь Викторовна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клеточной патофизиологии и биохимии научно-лабораторного отдела «Иркутского научного центра хирургии и травматологии», ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ДПО ИГМАПО

Ведущая организация ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «18» декабря 2015 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 220.006.01 при ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия имени В.Р. Филиппова» по адресу : 670034, Россия, г. Улан-Удэ, ул. Пушкина, 8; электронный адрес: E-mail: bqsha@bqsha.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия имени В.Р. Филиппова» по адресу: 670034, Россия, г. Улан-Удэ, ул. Пушкина, 8 и на сайте ВАК РФ <http://www.vak2.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2015г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Томилова Елизавета Алексеевна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Проблемы онкологии представляют большой интерес, как с биологической, так и с медицинской и ветеринарной стороны. (Трапезников Н.Н., Шайн А.А., 1992). Количество спонтанных опухолей растет у мелких домашних животных. По сравнению с другими животными злокачественные опухоли у собак и кошек встречаются значительно чаще, что нередко оказывается причиной их гибели или эвтаназии. (Уайт Ричард, 2003).

Изучение спонтанных новообразований у собак и кошек имеет большое значение для сравнительной онкологии. Собаки и кошки непосредственно контактируют с человеком и подвергаются воздействию одних и тех же факторов окружающей среды, поэтому изучение спонтанных новообразований у этих животных имеет большое значение для сравнительной онкологии. (Баранов С.В., 1991).

Несмотря на успехи лекарственной терапии опухолей, продолжает оставаться актуальным поиск препаратов, повышающих эффективность лечения злокачественных новообразований. В настоящее время для терапии и диагностики опухолей предлагается использовать неорганические наночастицы и их нанокомпозиты, при этом изучению воздействия наночастиц на здоровые клетки и ткани уделяется недостаточно внимания. (Морозкин Е.С., Запорожченко И.А., Харыкова М.В. и др., 2013).

Одной из важных и актуальных задач в развитии лекарственной терапии является создание нанокомпозитных препаратов, повышающих эффективность действия лекарственного вещества на организм человека или животных. Металлические наночастицы и их нанокомпозиты рассматриваются в виде перспективных лекарственных средств нового поколения, использующиеся для терапии раковых заболеваний. (Ткачук В.А. и др., 2008; Цыб А.Ф., 2008; Швец В.И., 2008; Niemeyer С.М., 2004; Kubik Т., 2005; Torchilin V., 2006; Bharad Bushan, 2007; Ehud G., 2007; Claudio N., 2008).

Исходя из вышеизложенного, целью исследования явилось установление морфологических вариантов опухолей **встречающихся у мелких домашних животных, содержащихся в условиях города Иркутска, а также изучение действия нанокомпозитных препаратов селена и серебра на организм лабораторных животных при развитии опухолевого процесса в эксперименте на модели прививаемой асцитной карциномы Эрлиха.**

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Провести клинико-морфологическую оценку встречающихся новообразований у собак и кошек, содержащихся в условиях г.Иркутска;
2. Изучить клинические случаи встречаемости онкологических заболеваний мелких домашних животных в зависимости от вида животного, породы, пола и возраста;

3. Изучить действия нанокompозитных препаратов селена и серебра *in vitro* на культуре клеток асцитной карциномы Эрлиха;

4. Изучить действие нанокompозитных препаратов селена и серебра на развитие опухолевого процесса в эксперименте на модели прививаемой асцитной карциномы Эрлиха;

5. Обосновать перспективы применения нанокompозитных препаратов серебра и селена в терапии онкологических заболеваний у животных.

Научная новизна:

Установлены морфологические варианты встречающихся опухолей мелких домашних животных по нашим клиническим случаям, содержащихся в условиях города Иркутска, приведена их подробная гистологическая характеристика. Впервые проведен анализ клинических случаев распространения заболеваемости спонтанными опухолями различного генеза у мелких домашних животных в зависимости от вида животного, породы, пола и возраста в условиях города Иркутска.

В доклинических исследованиях *in vitro* показано, что композиты серебра и селена с арабиногалактаном обладают цитотоксической активностью. Причем цитотоксическая активность обусловлена наличием серебра и селена в наноразмерном состоянии.

Установлено, что селен и серебро, взятые в наноразмерном состоянии, оказывают цитотоксический эффект. Благодаря способности раковых клеток обладать мощной гликолитической активностью, нанокompозитные препараты селена и серебра в решетки арабиногалактана хорошо захватываются раковыми клетками и обуславливают целевую доставку.

Теоретическая и практическая значимость работы

Анализ оценки клинических случаев распространения онкологических заболеваний у собак и кошек в зависимости от породы, пола, возраста могут быть использованы практикующими ветеринарными врачами при диагностике онкологических заболеваний у мелких домашних животных, что позволит избежать врачебных ошибок при выборе адекватной схемы лечения собак и кошек с подозрением на наличие у них различных неоплазий. Так же данный анализ показывает, что поиск и исследование новых препаратов, применяемых для лечения онкологических заболеваний животных, очень актуален.

Полученные экспериментальные данные являются доклиническим обоснованием применения нанокompозитных препаратов селена и серебра для лечения онкологических заболеваний животных. Рекомендовано дальнейшее исследование данных препаратов и использование их в терапии онкологических заболеваний мелких домашних животных.

Полученные результаты используются в учебном процессе на кафедрах: специальные ветеринарные дисциплины в Иркутском государственном аграрном университете имени А.А. Ежевского; патологии, морфологии и физиологии в Дальневосточном государственном аграрном

университете; анатомии и гистологии в Алтайском государственном аграрном университете.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 9 работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобразования и науки РФ для публикации результатов диссертации на соискание степени кандидата наук, получены 2 приоритетные заявки на изобретение РФ.

Апробация результатов исследований

Основные результаты исследования представлены на международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию профессора Василия Родионовича Филиппова «Актуальные вопросы ветеринарной медицины сиббири» г. Улан-Удэ, 27-29 июня 2013 г.; на международной научно-практической конференции посвященной 60-летию аспирантуры ИрГСХА «Экологическая безопасность и перспективы развития аграрного производства Евразии» г. Иркутск, 3-5 декабря 2013 г.; на региональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 80-летию ФГБОУ ВПО ИрГСХА «Современные проблемы и перспективы развития АПК» г. Иркутск, 25-27 февраля 2014г.; на международной молодежной научно-практической конференции «Молодежь и современные тенденции развития сельского хозяйства» г. Чита – 2014г.; на международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию образования Иркутской государственной сельскохозяйственной академии и 10-летию первого выпуска ветеринарных врачей «Состояние и перспективы развития ветеринарии и биотехнологии» г. Иркутск, 10-11 декабря 2014 г.; на XIV международной научно-практической конференции «Наука и образование: опыт, проблемы, перспективы развития» г. Красноярск, 22-23 апреля 2015 г.

Результаты исследования внедрены

Материалы по анализу распространения онкологических заболеваний у собак и кошек в условиях города Иркутска и экспериментальному исследованию нанокompозитных препаратов селена и серебра используются:

1. в учебном процессе и научной работе ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского» при чтении дисциплин на кафедре специальных ветеринарных;

2. используются сотрудниками Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН для направленного синтеза нанобиокompозитов с противоопухолевыми свойствами;

3. в учебном процессе и научной работе ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный аграрный университет» при чтении дисциплин на кафедре патологии, морфологии и физиологии;

4. в учебном процессе и научной работе ФГБОУ ВО «Бурятская сельскохозяйственная академия имени В.Р. Филиппова» при чтении дисциплин на кафедре анатомии, гистологии и патоморфологии;

5. в учебном процессе и научной работе «Национального университета биоресурсов и природопользования Украины» при чтении дисциплин на кафедре патологической анатомии

6. используются сотрудниками Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» при проведении научно-исследовательских работ;

7. используются сотрудниками Восточно-сибирского института медико-экологических исследований при проведении научно-исследовательских работ;

8. используется в практической работе сотрудников организации противоэпизоотических мероприятий, лечебной и лабораторной работы службы ветеринарии Иркутской области;

9. используется в практической работе сотрудников ОГБУ Иркутской городской станции по борьбе с болезнями животных;

10. используется в практической работе сотрудниками ветеринарного кабинета «Акело» ИП Гордиенко;

11. получена приоритетная заявка на изобретение «Средство, обладающее противоопухолевой активностью, на основе нанокompозитного арабиногалактана с селеном и способы получения таких нанобиокompозитов»: заявление от 5.08.2015; регистрационный №. 2015132794

12. получена приоритетная заявка на изобретение «Нанокompозит серебра на основе конъюгата арабиногалактана и флавоноидов, обладающий антимикробным и противоопухолевым действием, и способ его получения»: заявление от 5.08.2015; регистрационный №. 2015132795

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, включающих обзор литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, предложений и рекомендаций, и списка литературы и приложений; иллюстрирована 10 таблицами и 60 рисунками. Указатель литературы включает 194 источник, из них 148 работ отечественных и 46 – зарубежных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. К наиболее часто встречаемым онкологическим заболеваниям доброкачественного и злокачественного характера у собак и кошек в условиях города Иркутска относятся новообразования молочных желез.
2. Новые нанокompозитные препараты селена и серебра в экспериментах *in vitro* обладают цитотоксическим действием на клетки асцитной карциномы Эрлиха мышей. Эффективность нанокompозитного препарата серебра более ярко выражена по цитотоксическому действию по отношению к нанокompозитному препарату селена.
3. В исследованиях *in vivo* изучаемые препараты увеличивают продолжительность жизни животных больных перепрививаемой асцитной карциномой Эрлиха, замедляют опухолевые процессы,

обладают адресной доставкой. Цитостатическое действие нанокompозитного препарата селена лучше выражено по отношению к нанокompозитному препарату серебра.

Благодарность

Автор выражает глубокую благодарность и признательность научному руководителю, доктору биологических наук, доценту Иван Ивановичу Силкину и научному консультанту кандидату химических наук, ведущему научному сотруднику Борису Геннадьевичу Сухову. Доктора медицинских наук, профессора Власова Бориса Яковлевича благодарю за внимание, содействие, и поддержку на различных этапах выполнения диссертационной работы.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа является итогом научных исследований, выполненных автором в соответствии с общей комплексной темой кафедры специальных ветеринарных дисциплин Иркутского государственного аграрного университета имени А.А. Ежевского (номер государственной регистрации 114121670039).

Эксперимент выполнен в Иркутском государственном аграрном университете имени А. А. Ежевского, г. Иркутск. Биохимические исследования проводились на базе ФГБУ «Научный центр проблем здоровья и репродукции человека» СО РАМН, г. Иркутск. Морфологические и гистохимические исследования проводились в Иркутском государственном аграрном университете имени А.А. Ежевского, г. Иркутск.

Для установления морфологических вариантов новообразований и изучения степени распространенности онкологических заболеваний у собак и кошек, содержащихся в условиях города Иркутска использовался биопсийный и операционный материал, который фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине с последующей гистологической обработкой и приготовлением гистосрезов толщиной 5-7 мкм. Материалом для цитологических исследований являлись мазки-отпечатки, полученные с периферии новообразований, а также путем аспирации стерильным шприцом с глубины опухолей 0,3-0,5см. Исследуемый материал был получен в ветеринарных клиниках: Иркутская станция по борьбе с болезнями животных, ФКЭО «Айболит» факультета биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВПО «ИрГСХА», Ветеринарный кабинет «Друг», ООО «Байкалвет», ИП Ивкина З.И.

Материал получали с апреля 2007 по сентябрь 2014 года от 456 животных.

Эксперименты были проведены на белых беспородных мышьях самцах, массой 20-25 г в возрасте 2,0 – 2,5 мес., разводимых в виварии научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока (ветеринарный сертификат 254 №0336050 от 28.07.2010) и содержащихся в стандартных условиях.

Для изучения опухолевого процесса и влияния на него нанокompозитных препаратов животным в брюшную полость осуществляли инокуляцию клеток АКЭ в количестве 3×10^6 на одно животное в 0,2 мл 0,9 % NaCl.

Нанокompозитные препараты селена (нано-Se) и серебра (нано-Ag) были синтезированы в ФГБУН «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского» СО РАН. Нанокompозитные препараты селена и серебра представляют собой гибридные органо-неорганические порошки. В качестве органической фазы выступает природный галактозосодержащий полисахарид АГ. В качестве неорганической фазы выступают наноразмерные частицы элементного селена в количестве 8-10 % и размером 10-15 нм и наноразмерные частицы элементного серебра в количестве 12 % и размером 10 нм. Порошок нано-Se имеет красно-оранжевый цвет, а нано-Ag - темно-коричневый, оба хорошо растворимы в воде.

Введение изучаемых веществ осуществляли через 24 часа после прививки АКЭ. Контрольные животные получали 0,9% физиологический раствор

Изучаемые композитные препараты вводили животным внутрибрюшинно в дозе: нано-Se 9,7 % - 2,5 мг селена/1 кг; 5 мг селена/1 кг и 7,5 мг селена/1 кг массы животного, предварительно растворив 0,1 гр сухого препарата в 80 мл воды; а нано-Ag 12 % - 2000 мкг серебра/1 кг; 3000 мкг/1 кг и 4000 мкг/1 кг массы животного, предварительно растворив 4,2 мг сухого вещества в 5 мл воды (доза общего препарата вычислялась, исходя из информации о содержании селена и серебра в нанокompозитных препаратах) Все исследования выполнены в соответствии с этическими требованиями по работе с экспериментальными животными, изложенными в следующих нормативно-правовых документах: «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР №775 от 12.08.1977 г.); Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации, 2000 г.; «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005) «Правила лабораторной практики» (приложение к приказу МЗ РФ №708н от 23.08.2010 г.).

2.1.1. Определение цитотоксической активности препаратов *in vitro*

Культуру перепрививаемого штамма асцитной карциномы Эрлиха, приобретенную в питомнике Федерального государственного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Россия, Новосибирская область, поселок Кольцово), ветеринарный сертификат 254 № 0336050 от 28 июля 2010 г., инкубировали с наноструктурированными селенсодержащим и серебросодержащим соединениями на основе арабиногалактана в питательной среде ДМЕМ/F-12

(ПанЭко) при 37С в течение 24 часов, контрольную группу — без добавления наноструктурированных соединений на основе арабиногалактана.

Опухоль берут у мышей через 8-12 дней после прививки.

После извлечения клеток из организма их помещали в питательную среду, которая должна обеспечивать все внешние условия, которые клетки имели *in vivo*.

Растворы изучаемых наноструктурированных соединений в различных концентрациях вводили в экспериментальные образцы клеток однократно.

Цитотоксическую активность оценивали по выживаемости клеток АКЭ в присутствии композитов и в контрольной группе без добавления наноструктурированных композитов. Выживаемость клеток оценивали с помощью микроскопа Nikon Eclipse 80i. Определяли снижение или увеличение содержания количества клеток асцитной карциномы Эрлиха в питательной среде после 24-х часовой инкубации, также определяли нарушение морфологии ядер и оболочек опухолевых клеток, наличие наноструктурированных композитов в клетках и вне клеточной среде.

Моделирование опухолевого процесса Опухолевый процесс моделировали путем перепрививки АКЭ.

Опухоль берут у мышей через 8-12 дней после прививки. Мышь с опухолью умерщвляют путем дислокации шейных позвонков с помощью хирургического зажима, предварительно введя животное в ингаляционный наркоз. После прекращения конвульсий мышь помещают на пенопластовый столик и фиксируют иголками в положении на спине. Тщательно протирают шерсть в области брюшной полости ватным тампоном, смоченным в спирте 70 %, двигая тампоном по шерсти и против шерсти. Делают продольный разрез кожи в области брюшной полости, кожу оттягивают пинцетом и фиксируют иголками на пенопластовом столике. Стерильными ножницами делают разрез брюшной мышечной стенки и в стерильный шприц объемом 5 мл набирают асцитную жидкость.

Прививка опухоли.

Приготавливают суспензию клеток АКЭ с таким расчетом, чтобы в 1 мл суспензии находилось 15×10^6 клеток. Для того чтобы перепрививать опухоль, необходимо 0,2 мл полученной суспензии (т.е. 3×10^6 клеток) ввести в брюшную полость мыши. Кожу и шерсть мыши-реципиента в месте будущего прокола предварительно обрабатывают 70 % спиртом. (Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др., 1994.; Крыжанов М.А., Залесских А.Ф., Троицкая М.В., Соловьев В.В., Тихомиров А.И., 1991; Прудовский И.А., Сухарев С.И., 1988; Тартаковский А.Д., 1988; Wilmut I. et al., 1997).

2.1.2. Оценка противоопухолевого эффекта

Приемлемый контроль проводится на 8 – 9-й день со дня перепрививки АКЭ.

Оценка количества опухолевых клеток.

Оценка среднего количества опухолевых клеток в 1 мл асцитной жидкости проводится путем получения суспензии отмытых клеток АКЭ, разведенных физиологическим раствором, и подсчитывания в камере Горяева концентрации клеток. Затем вычисляют по формуле:

$$X = (A * B * C) / 80$$

где А – число клеток АКЭ в 80 квадратах

В – объем разведенной АКЭ С –

степень разведения

80 – это 5 больших квадратов * на 16 малых квадратов Оценка противоопухолевого эффекта по торможению роста опухоли.

Степень торможения роста опухоли определяется по показателям ТРО и Т/С, вычисляемым по формулам :

$$\text{ТРО \%} = (V_{\text{контроля}} - V_{\text{опыта}} / V_{\text{контроля}}) * 100$$

$$\text{Т/С \%} = (V_{\text{опыта}} / V_{\text{контроля}}) * 100$$

где V – средний объем опухоли (мл) в подопытной и контрольной группах, соответственно, на конкретный срок; Т – леченая группа; С – контрольная группа; Т/С – величина, обратная ТРО, используется в случаях, когда имеется стимуляция роста опухоли и во всех случаях лечения развившейся опухоли.

Количественные критерии оценки ингибирующего эффекта на опухолях животных:

ТРО < 20% 0

ТРО < 20-50% ±

ТРО < 51-80% +

ТРО < 81-90% ++

ТРО < 91-100% + < 50 % ПР/излечение +++

ТРО < 91-100% + > 50% ПР/излечение ++++

Оценка противоопухолевого эффекта по увеличению продолжительности жизни.

Проводится по окончании опыта и гибели всех животных. Определяется средняя продолжительность жизни (СПЖ, дни) в группе и вычисляются показатели увеличения продолжительности жизни (УПЖ %) (УПЖ = Т/С – 100) и Т/С по формулам:

$$\text{УПЖ \%} = (\text{СПЖ}_{\text{опыта}} - \text{СПЖ}_{\text{контроля}} / \text{СПЖ}_{\text{контроля}}) * 100$$

Минимальный критерий активности процента увеличения продолжительности жизни ≥ 25

$$\text{Т/С} = (\text{СПЖ}_{\text{опыта}} / \text{СПЖ}_{\text{контроля}}) * 100$$

Количественные критерии активности:

Т/С < 125% 0

Т/С 125-160% ±

Т/С 161–200% +

Т/С 201–300% или 161–200% при однократном введении ++

Т/С > 200% + ПР < 50% или 201-300% при однократном введении +++

Т/С > 300% + ПР > 50% или < 50% при однократном введении ++++

(Хабриева Р.У., 2005; Софьиной З.П., Сыркина А.Б., 1979).

2.1.3. Гематологические и биохимические исследования крови лабораторных животных в доклинических исследованиях

Общий анализ крови проводили на гематологическом анализаторе Mythic18. Биохимические исследования крови проводили на биохимическом анализаторе Selectrs-RroM спектрофотометрическим способом. Результаты сравнивали с нормами и между группами.

2.1.4. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций.

Исследования проводились на достаточном по численности материале, согласно утвержденному плану исследований. Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке при помощи программы STATISTICA 6.1. (Statsoft Inc., США); правообладатель лицензии ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Сибирского отделения РАМН (г. Иркутск). Статистическую обработку проводили параметрическими методами с использованием критерия Т-Стьюдента. Различия сравниваемых показателей считали значимыми при $p \leq 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Онкологические заболевания собак и кошек в условия г. Иркутска

По морфологической характеристике и характеру течения диагностируемых новообразований данные распределились следующим образом: доброкачественные новообразования – 262 случая (57,5%); злокачественные новообразования – 194 случаев (42,5%); воспалительные процессы – 23 случаев (5%).

Наиболее распространенные доброкачественные новообразования у мелких домашних животных в городе Иркутске за последние 5 лет – это фиброаденома молочной железы, затем следует фибромы, эпюлисы, папилломы и липомы.

Воспалительные процессы локализовались в лимфатических узлах. Среди злокачественных опухолей чаще всего можно наблюдать рак молочной железы, различной морфологической вариации, карциномы кожи и фибросаркомы.

При анализе полученных данных, по локализации новообразований у мелких домашних животных от общего количества случаев, можно сделать следующие выводы: поражение молочных желез доброкачественного характера составляет 18,2 % и злокачественного 18 %; соответственно конечностей 9.52% и 4.7%; ротовой полости 14.52% и 9.7%; в различных

областях тела животных (области головы, шеи, мечевидного отростка, спины и хвоста) 11.52% и 8.72%; влагалища и половых губ 1.6% и 3.2%.

По полученным данным также можно провести анализ по виду и породам животных. В условиях города Иркутска новообразования наиболее часто встречаются у собак породы немецкая овчарка 8,1 % , кавказская овчарка 7,5 % и беспородных собак, на них приходится 13,8%. У кошек новообразования чаще встречаются у пород персидской 4,6 % и британской 3,7 %, но больше всего болеют беспородные кошки 21,5 %.

Также был проведен анализ собранных данных по количеству диагностированных случаев по возрастам. Из чего видно, что доброкачественные новообразования наиболее часто регистрируются у собак 5-10-летнего возраста, а злокачественные новообразования у животных старше 7-летнего возраста. У кошек доброкачественные новообразования встречаются чаще в возрасте 3-7-ми лет, а злокачественные новообразования старше 10-летнего возраста.

Мы также проанализировали зависимость диагностированных новообразований от пола животного. Оказалось, что в условиях города Иркутска новообразования чаще встречаются среди собак у кобелей – 95 случаев (20,8%), из них доброкачественные опухоли приходится – 46 случаев (10,1%) и злокачественного характера – 49 случая (10,7%). У сук общее количество новообразований составляет 201 случаев (44,1%), с доброкачественным характером – 98 случая (21,5%) и 103 случая (22,6%) – злокачественные опухоли. У кошек общее количество составило 138 случаев (30,3%): доброкачественные – 96 случаев (21,1%) и злокачественные – 42 случая (9,2%). У котов отмечены только доброкачественные новообразования – 22 случая (4,8%).

3.2. Оценка противоопухолевого действия нанокompозитных препаратов селена и серебра на асцитную карциному Эрлиха в *in vitro*

3.2.1. Противоопухолевый эффект нанокompозитного препарата селена *in vitro* на примере культуры клеток перепрививаемого штамма асцитной карциномы Эрлиха.

Культуру перепрививаемого штамма асцитной карциномы Эрлиха инкубировали с наноструктурированным селенсодержащим соединением на основе арабиногалактана в дозе 2.5 мг, 5 мг и 7.5 мг на кг (в пересчете на Se), контрольная группа — без добавления наноструктурированных селенсодержащих соединений на основе арабиногалактана.

Оценку эффекта воздействия на культуру опухолевых клеток и распределение наноструктурированного селенсодержащего соединения проводили с использованием световой микроскопии, дифференциального интерференционного контраста и флюоресценции. Как известно, наноструктурированные селенсодержащие соединения на основе

арабиногалактана способны к флюоресценции в широком диапазоне — от 405 до 514 нм.

Использованный нами в данном исследовании нанокompозит селена и арабиногалактана исследован с помощью микроскопа Nikon Eclipse 80i с приставкой для эпифлюоресценции DIN-M. В качестве фильтров применяли Nikon B-2A (возбуждение 450-490 нм, дихроичное зеркало 505 LP, эмиссия ≥ 515 нм), Nikon TRITC (возбуждение 528-553 нм, дихроичное зеркало 565 LP, эмиссия 590-650 нм).

Установлено яркое свечение при использовании фильтров Nikon B-2A и Nikon TRITC.

При флуоресцентном исследовании мазков, приготовленных после инкубации в питательной среде в течение 1 суток установлено, что у контрольной группы свечения клеток асцитной карциномы Эрлиха через 24 часа инкубации не обнаружено.

При аналогичном исследовании клеток карциномы, инкубированных с нанокompозитом селена и арабиногалактана, выявлено свечение ядер клеток асцитной карциномы Эрлиха. Более яркое свечение наблюдается в образце, где концентрация нанокompозитного препарата селена наивысшая – 7,5 мг на кг в пересчете на селен.

Вне клеток в поле зрения свечение не обнаружено. Таким образом, представлено избирательное накопление нанокompозита в ядрах опухолевых клеток.

После 24-х часовой инкубации в клетках асцитной карциномы Эрлиха с добавлением нано селена на основе арабиногалактана наблюдается разрушение опухолевых клеток, что не обнаружено в контрольном образце.

Для изучения морфологии ядер асцитной карциномы Эрлиха применяли ядерный краситель Hoechst 33342. Ядра клеток асцитной карциномы Эрлиха в контрольном образце одинакового размера, чаще округлой формы, без признаков деструктивных изменений. В образцах с добавлением нанокompозитного препарата селена в морфологии ядер опухолевых клеток наблюдаются существенные изменения. В мазках с наименьшим содержанием селена (2,5 мг на кг в пересчете на селен) ядра неправильной формы, уменьшены в размере по отношению к контрольной группе. С повышением концентрации селена в образцах отмечается появление как клеток перстневидной формы, так и значительно уменьшенных в объеме неправильной формы ядер, что может говорить о снижении жизнеспособности клеток карциномы, деструктивных процессов в ядрах.

После 24-х часовой инкубации клеток асцитной карциномы Эрлиха наблюдается тенденция к снижению количества клеток во всех образцах. В образце контрольной группы снижение количества клеток карциномы Эрлиха отмечается всего на 8 % и в поле зрения имеются клетки в различных стадиях деления. В образцах с добавлением нанокompозитного препарата селена на основе арабиногалактана отмечается значительное уменьшение

числа клеток от 28 % до 60 %. Данное снижение объясняется присутствием различной концентрацией селена в образцах и количеством клеток до инкубации. Можно сделать вывод: чем больше концентрация селена в образце, тем больше процент гибели клеток карциномы Эрлиха, а так же чем концентрация клеток выше до инкубации в образце, тем больше идет поглощение препарата клетками.

3.2.2. Противоопухолевый эффект нанокompозитного препарата серебра *in vitro* на примере культуры клеток перепрививаемого штамма асцитной карциномы Эрлиха.

Культуру перепрививаемого штамма асцитной карциномы Эрлиха инкубировали с наноструктурированным серебросодержащим соединением на основе арабиногалактана в дозе 2000 мкг, 3000 мкг и 4000 мкг на кг (в пересчете на Ag), контрольная группа — без добавления наноструктурированных серебросодержащих соединений на основе арабиногалактана.

Оценку эффекта воздействия на культуру опухолевых клеток и распределение наноструктурированного серебросодержащего соединения проводили с помощью микроскопа Nikon Eclipse 80i.

После 24-х часовой инкубации в клетках асцитной карциномы Эрлиха с добавлением нано серебра на основе арабиногалактана наблюдается нарушение морфологии ядер опухолевых клеток, что не обнаружено в контрольном образце.

Для изучения морфологии ядер асцитной карциномы Эрлиха применяли гематоксилин. В образцах с добавлением нанокompозитного препарата серебра в морфологии ядер опухолевых клеток наблюдаются существенные изменения. В мазках с наименьшим содержанием серебра (2000 мкг на кг в пересчете на серебро) отмечается появление клеток перстневидной формы и разрушением оболочек, что говорить о снижении жизнеспособности клеток карциномы, деструктивных процессов в ядрах. С повышением концентрации серебра в образцах отмечается увеличение появления как клеток перстневидной формы, так и разрушенных клеток, отмечается апоптоз.

После 24-х часовой инкубации клеток асцитной карциномы Эрлиха наблюдается тенденция к снижению количества клеток во всех образцах. В образце контрольной группы снижение количества клеток карциномы Эрлиха отмечается всего на 8 % и в поле зрения имеются клетки в различных стадиях деления. В образцах с добавлением нанокompозитного препарата серебра на основе арабиногалактана отмечается значительное уменьшение числа клеток от 34 % до 48 %. Данное снижение объясняется присутствием различной концентрацией серебра в образцах. Можно сделать вывод: чем больше концентрация серебра в образце, тем больше процент гибели клеток карциномы Эрлиха.

3.3. Оценка противоопухолевого действия нанокompозитных препаратов селена и серебра на асцитную карциному Эрлиха мышей

Оценка противоопухолевого действия нанокompозитных препаратов серебра на асцитную карциному Эрлиха мышей

Во время исследования наблюдается тенденция к снижению объема асцитной жидкости и количества клеток карциномы в опытных группах по сравнению с контрольной группой. Также отмечается увеличение продолжительности жизни онкобольных мышей. Другими словами, нанокompозитный препарат серебра обладает цитотоксическими свойствами по отношению к клеткам перепрививаемой асцитной карциномы Эрлиха, не давая интенсивно развиваться раковому процессу.

Сравнительный анализ между опытными группами показывает, что при введении нано препарата серебра в опытной группе №2 в дозе 2000 мкг серебра на 1 кг массы наблюдается самые хорошие показатели по продолжительности жизни, снижению количества клеток асцитной карциномы Эрлиха, а также самый высокий процент по торможению роста опухоли и увеличению продолжительности жизни. В опытной группе № 4 с дозой препарата 4000 мкг серебра на 1 кг массы показаны менее хорошие результаты по данным критериям у животных данной группы по сравнению с другими опытными группами, что может быть связано с большей токсичностью нанопрепарата.

Оценка противоопухолевого действия нанокompозитных препаратов селена на асцитную карциному Эрлиха мышей.

По результатам наблюдается тенденция к снижению объема асцитной жидкости и количества клеток карциномы в опытных группах по сравнению с контрольной группой.

Также отмечается увеличение продолжительности жизни онкобольных мышей. Другими словами, нанокompозитный препарат селена обладает цитотоксическими свойствами по отношению к клеткам перепрививаемой асцитной карциномы Эрлиха, не давая интенсивно развиваться раковому процессу.

Сравнительный анализ между опытными группами показывает, что при введении нанопрепарата селена в дозе 5 мг селена на 1 кг массы в пересчете на селен наблюдается самый высокий уровень продолжительности жизни мышей. В опытной группе № 4 с дозой препарата 7,5 мг селена на 1 кг массы в пересчете на селен показаны очень хорошие результаты по уменьшению асцитной жидкости и наивысшей степени торможения роста опухоли, но продолжительность жизни у животных данной группы наименьшая по сравнению с другими опытными группами.

Нанокompозиты селена и серебра обладает противоопухолевым действием на рост карциномы Эрлиха, перевитой внутрибрюшинно мышам самцам. Противоопухолевые эффекты при однократном введении были значительными, но не полными. Нанокompозиты селена и серебра

перспективны для дальнейшего изучения с целью клинического применения в качестве противоопухолевого средств.

3.4. Гематологические и биохимические изменения крови лабораторных животных в доклинических исследованиях во время применения нанокompозитных препаратов селена и серебра.

3.4.1. Изменение показателей крови при лечении нанокompозитным препаратом селена на модели опухоли асцитной карциномы Эрлиха.

Аламинаминотрансферазы (АЛТ) во всех группах завышены. Причиной повышения является поражение клеток печени. В эритроцитах и в клетках поперечно-полосатой мускулатуры содержится небольшое количество АЛТ и при их разрушении может возникать относительно небольшое повышение сывороточной АЛТ (т.е. менее чем в два-три раза по сравнению с нормальным значением). В гепатоцитах содержится существенное количество АЛТ в цитозоле, и значительное повышение содержания АЛТ в сыворотке (т.е. в три и более раз по сравнению с нормальными значениями) свидетельствует о выходе фермента из гепатоцитов, но это не всегда означает первичное или необратимое заболевание печени. Степень повышения содержания АЛТ не коррелирует с тяжестью заболевания печени и не является прогностическим признаком, пока не будет поставлен точный диагноз. Период полураспада АЛТ составляет примерно один-два дня или меньше и обычно предполагается, что содержание АЛТ снижается в течении одной-двух недель после прекращения воздействия на печень активного повреждающего фактора. Считается, что уровень фермента остается повышенным, пока происходит регенерация печени. Так же видно что, показатель АЛТ в контрольной группе значительно выше, чем в опытных. Более низкие значения АЛТ в опытных группах может быть связаны с гепатотропными свойствами нанокompозитного препарата селена на основе арабиногалактана, что способствует лучшему восстановлению печени во время онкологического процесса в организме.

Значительное повышение отмечается аспаратаминотрансферазы (АСТ) – так же, как и АЛТ, АСТ в значительных количествах содержится в гепатоцитах. Тогда как АЛТ находится в цитозоле, АСТ содержится в митохондриях. Повышение сывороточной АЛТ отражает повреждение клеточной мембраны и потерю фермента, тогда как повышение АСТ чаще указывает на более серьезные повреждения печени, так как разрушить митохондрии не так просто, как клеточную мембрану. Однако АСТ содержится в значительных количествах и во многих других тканях, включая мышцы и эритроциты; следовательно, повышение этого фермента не так специфично для заболеваний печени, как повышение АЛТ. Физические нагрузки и внутримышечные инъекции могут повысить содержание АСТ в сыворотке. Значительное повышение АСТ и АЛТ свидетельствует о том, что

повышение АСТ происходит из-за заболевания печени. В связи с выше изложенным можно предположить, что повышение АСТ во всех группах связано со снижением эритроцитов у животных и потерей мышечной массы, так как у всех животных зараженных асцитной карциномой Эрлиха отмечается атрофия мышц и нарастание значительных отеков конечностей. Повышение АСТ в опытных группах №2 и №3 отмечается незначительным, что так же можно связать с незначительным снижением количества эритроцитов, отсутствием отеков конечностей животных и снижением объема асцитной жидкости.

Во всех группах отмечается гипогликемия (падение глюкозы ниже нормы). Изменение данного показателя могло возникнуть в следствие избыточного потребления глюкозы неопластическими клетками. А также гипогликемия могла возникнуть при нарушении печеночного глюконеогенеза и глюкогонолиза, т.е. при печеночной недостаточности. Что описывалось выше.

Азот мочевины - применяется как скрининговый тест почечной функции. Уменьшение содержания азот мочевины происходит посредством уменьшения выработки (печеночная недостаточность или алиментарное ограничение белка) или увеличение экскреции (полиурические состояния, гипергидратация или беременность на позднем сроке). Увеличение может быть результатом преренальных причин, почечного паренхиматозного заболевания или постренальных причин. Значительное завышение показателя азот мочевины отмечается в контрольной группе, в опытных группах отмечаются незначительные колебания от снижения нормы до ее незначительного повышения, которые в дальнейшем будут еще отслеживаться.

Гиперхолестеринемия отмечается в контрольной группе и может указывать на нарушение жирового обмена в организме в связи с онкологическим процессом.

Гематокрит – один из условных показателей, получаемый в результатах общего анализа крови, указывающий на процентное соотношение объема клеток крови в общем объеме крови. Во всех группах отмечается снижение гематокрита, что может быть обусловлено снижением эритроцитов, что также отмечается во всех группах.

Во всех группах отмечается снижение количества эритроцитов (эритропения), но при этом содержание гемоглобина в опытных группах остается в пределах нормы, но в контрольной группе отмечается его снижение. Пониженное количество эритроцитов в крови (эритроцитопения, олигоцитемия) встречается при длительном недокорме животных, постгеморрагической, гемолитической, железодефицитной, гипопластической анемиях, фолиеводефицитной анемии, лейкозах, злокачественных новообразованиях. Олигоцитемия развивается при инфекционной анемии, гепатите и гепатозе, хроническом нефрите.

Что бы установить конкретную причину снижения эритроцитов в крови опытных и контрольных животных необходимо дальнейшее исследование и мониторинг показателей.

Также у животных контрольной и опытных групп отмечается нейтрофилез (повышение уровня в крови нейтрофилов) и лимфоцитопения (снижение количества лимфоцитов). Нейтрофилия может быть обусловлена опухолевым процессом. Лимфоцитопения может быть связана с применением нанокompозитного препарата селена на основе арабиногалоктана. Так как чем больше было поставлено препарата животным, тем сильнее проявляется лимфоцитопения. Дальнейшее наблюдение за данными показателями будет продолжаться, что бы установить точную причину сдвига от нормы.

3.4.2. Изменение показателей крови при лечении нанокompозитным препаратом серебра на модели опухоли асцитной карциномы Эрлиха.

Значительное повышение отмечается аспаратаминотрансферазы (АСТ) в контрольной группе, в опытных группах данный показатель находится в норме. АСТ содержится в значительных количествах во многих тканях, включая мышцы и эритроциты; следовательно, повышение этого фермента не так специфично для заболеваний печени, как повышение АЛТ. В связи с выше изложенным можно предположить, что повышение АСТ в контрольной группе связано со снижением эритроцитов у животных и потерей мышечной массы, так как у всех животных зараженных асцитной карциномой Эрлиха отмечается атрофия мышц и нарастание значительных отеков конечностей. Повышение АСТ в опытных группах не отмечается, что можно связать с незначительным снижением количества эритроцитов, отсутствием отеков конечностей животных и снижением объема асцитной жидкости.

Во всех группах отмечается гипогликемия (падение глюкозы ниже нормы). Изменение данного показателя могло возникнуть в следствие избыточного потребления глюкозы неопластическими клетками. А также гипогликемия могла возникнуть при нарушении печеночного глюконеогенеза и глюкогенолиза, т.е. при печеночной недостаточности. Что описывалось выше.

Азот мочевины - применяется как скрининговый тест почечной функции. Значительное завышение показателя азот мочевины отмечается в контрольной группе, в опытных группах отмечаются незначительные колебания от снижения нормы до ее незначительного повышения, которые в дальнейшем будут еще отслеживаться.

Гиперхолестеринемия отмечается в контрольной группе и может указывать на нарушение жирового обмена в организме в связи с онкологическим процессом. В опытных группах данный показатель находится в пределах нормы.

В опытных группах №2 и №3 и контрольной группе отмечается снижение гематокрита, что может быть обусловлено снижением эритроцитов, что также отмечается в аналогичных группах.

Во всех группах отмечается незначительное снижение количества эритроцитов (эритропения) и содержание гемоглобина в опытных группах остается незначительно сниженным, в контрольной группе отмечается снижение как эритроцитов так и гемоглобина.

Что бы установить конкретную причину снижения эритроцитов в крови опытных и контрольных животных необходимо дальнейшее исследование и мониторинг показателей.

Также у животных контрольной и опытных групп отмечается нейтрофилез (повышение уровня в крови нейтрофилов) и лимфоцитопения (снижение количества лимфоцитов). Нейтрофилия может быть обусловлена опухолевым процессом. Лимфоцитопения может быть связана с применением нанокompозитного препарата серебра на основе арабиногалоктана. Дальнейшее наблюдение за данными показателями будет продолжать, что бы установить точную причину сдвига от нормы.

3.5. Патоморфологические изменения некоторых органов опытных животных с асцитной карциномой Эрлиха мышей во время применения нанокompозитных препаратов селена и серебра на основе арабиногалоктана.

Нанокompозитные препараты селена и серебра отрицательно влияют в на развитие пролиферативных процессов асцитной карциномы Эрлиха в сальнике и брюшной стенке в месте прокола иглой во время перепрививки. Более выраженные цитотоксические и цитостатические действия оказывает нанокompозитный препарат серебра по отношению к нанокompозитному препарату селена. При воздействии нанокompозитных препаратов селена и серебра на онкологические клетки отмечается уменьшение пролиферативных процессов, снижение активности ядер данных клеток, появления некротизированных участков раковых клеток и проявление ограниченности их от окружающих патологически не измененных клеток. Данные нанокompозитные препараты перспективны для дальнейшего изучения и применения в онкологической практики.

4. ВЫВОДЫ

1. В условиях города Иркутска по нашим клиническим случаям новообразования наиболее часто встречаются у собак породы немецкая овчарка, кавказская овчарка и беспородных собак. У кошек новообразования чаще встречаются у пород персидской и британской, но больше всего болеют беспородные кошки. Доброкачественные новообразования по нашим исследованиям регистрируются у собак 5-10-летнего возраста, а злокачественные новообразования у животных старше 7-летнего возраста. У кошек доброкачественные новообразования встречаются чаще в возрасте 3-7-ми лет, а злокачественные новообразования старше 10-летнего возраста.

Чаще всего встречаются случаи поражения молочных желез: доброкачественного характера составляет 18,2 % и злокачественного 18 %.

2. Отмечается в опытах *in vitro* разрушение клеток асцитной карциномы Эрлиха, изменение морфологии клеток асцитной карциномы Эрлиха и уменьшение их количества после инкубации в течении суток.

3. В опытах на мышах было установлено увеличение продолжительности жизни животных, снижение образование объема асцита и уменьшение количества клеток асцитной Карциномы в асцитной жидкости. При гистологическом исследовании сальника и мышц брюшной стенки в месте прокола после перепрививки АКЭ, установили уменьшение инфильтрации опухолевыми клетками данные части организма по отношению к контрольной группе и снижение активности ядер раковых клеток.

4. Нанокompозитный препарат селена в доклинических исследованиях показывает лучше результаты в цитостатическом и цитотоксическом действии по отношению к модели опухоли, чем нанокompозитный препарат серебра.

5. Дальнейшее изучение нанокompозитных препаратов селена и серебра по нашим исследованиям является перспективным в терапии онкологических заболеваний животных.

6. ПРЕДЛОЖЕНИЯ И РЕКОМЕНДАЦИИ

Для своевременной диагностики и профилактики новообразований у мелких домашних животных и выбора адекватной терапии рекомендовано:

1. Систематически исследовать онкологические заболевания мелких домашних животных с целью выявления половозрастной и породной предрасположенности собак и кошек к данной патологии;

2. Проводить гистологические и цитологические исследования всех новообразований у собак и кошек, с целью постановки раннего точного диагноза у больных животных и назначения своевременного лечения.

Результаты исследования также являются доклиническим изучением новых наноструктурированных композитных препаратов селена и серебра и могут быть использованы в следующих областях:

1. В лабораториях, которые занимаются проблемами онкологии в области ветеринарии и медицины;

2. В ветеринарной практике для профилактики и лечения онкологических заболеваний животных;

3. При написании учебных пособий, монографий, соответствующих разделов учебников и справочных материалов по проблеме онкологической патологии животных;

4. В образовательном процессе при проведении занятий на факультетах ветеринарной медицины и биологии;

5. В экспериментальной работе по проблемам онкологии в ветеринарии и медицине.

7. СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лозовская Е.А. Мониторинг онкологических заболеваний мелких домашних животных в условиях города Иркутска./ Е.А. Лозовская, И.И. Силкин// Научно-практический журнал «Вестник ИрГСХА». Иркутск: ФГБОУ ВПО «Иркутская государственная сельскохозяйственная академия», 2012. – Вып 51. – С. 89-94.
2. Лозовская Е.А. Морфологическая характеристика злокачественных опухолей молочной железы у собак, содержащихся в условиях города Иркутска./ Е.А. Лозовская, И.И. Силкин// Научно-практический журнал «Вестник ИрГСХА». Иркутск: ФГБОУ ВПО «Иркутская государственная сельскохозяйственная академия», 2012. – Вып 53. – С. 84-88.
3. Лозовская Е.А. Морфологические вариации эпулисов у собак и кошек, содержащихся в условиях города Иркутска./ Е.А. Лозовская, И.И. Силкин// материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию профессора Василия Родионовича Филиппова «Актуальные вопросы ветеринарной медицины сибиря» (г. Улан-Удэ, 27-29 июня 2013 г.). – Улан-Удэ: БГСХА им. В.Р. Филиппова, 2013. – С. 58-61.
4. Лозовская Е.А. Перспективы применения природных антиоксидантов при лечении онкопатологий молочной железы мелких домашних животных на примере дигидрокверцетина./Е.А. Лозовская, И.И. Силкин//Материалы международной научно-практической конференции посвященной 60-летию аспирантуры ИрГСХА « Экологическая безопасность и перспективы развития аграрного производства Евразии» (г. Иркутск, 3-5 декабря 2013 г.).- Иркутск: ИрГСХА, 2013. – С. 197-200.
5. Лозовская Е.А. Перспективы применения нанокompозита серебра при лечении онкологических заболеваний мелких домашних животных./ Е.А. Лозовская, И.И. Силкин//Материалы региональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 80-летию ФГБОУ ВПО ИрГСХА «Современные проблемы и перспективы развития АПК» (г. Иркутск, 25-27 февраля 2014г.).- Иркутск: ИрГСХА, 2014. – С. 48-51.
6. Лозовская Е.А. Перспективы применения нанокompозитов на основе арабиногалактана в онкологии./Е.А. Лозовская, И.И. Силкин//Материалы международной молодежной научно-практической конференции «Молодежь и современные тенденции развития сельского хозяйства» (г. Чита – 2014г.). – Чита: Забайкальский аграрный институт, 2014. – С. 76-79.
7. Лозовская Е.А. Перспективы применения нанокompозита селена при лечении онкологических заболеваний мелких домашних животных./Е.А. Лозовская, И.И. Силкин//Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию образования Иркутской государственной сельскохозяйственной академии и 10-летию первого выпуска ветеринарных врачей «Состояние и перспективы развития

ветеринарии и биотехнологии» (г. Иркутск, 10-11 декабря 2014 г.).- Иркутск: ИрГСХА, 2014. – С.44-48.

8. Лозовская Е.А. Проблемы распространенности трансмиссивной венерической саркомы у бездомных собак в городе Иркутске./ Е.А. Лозовская, И.И. Силкин//Материалы XIV международной научно-практической конференции «Наука и образование: опыт, проблемы, перспективы развития» (г. Красноярск, 22-23 апреля 2015 г.). - Красноярск: КрасГАУ, 2015.- С. 277-281.
9. Лозовская Е.А. Влияние нанопрепарата «Селен» на функциональное состояние клеток асцитной карциномы Эрлиха (in vivo)/ Е.А. Лозовская, И.И. Силкин, Б.Г. Сухов // Научно-практический журнал «Вестник КрасГАУ». Красноярск: ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», 2015. – Вып 9. – С. 56-59.

Краткий указатель использованных в диссертации единиц физических величин и условных сокращений

АКЭ – асцитная карцинома

Эрлиха

М – средняя величина

Se – селен

Ag - серебро

АЛТ - аламинаминотрансфераза

АСТ - аспартатаминотрансфераза

P – уровень вероятности

