

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.2

№2/2025

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

№2

International bulletin
of Veterinary Medicine



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2025

www.spbguvvm.ru

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ 2.2025

Редакционный совет

К.В. Племяшов - гл. ред., чл.-корр. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., СПб.

Л.Ю. Карпенко - зам. гл. ред., д-р биол. наук, проф., СПб.

А.И. Ятусевич - зам. гл. ред., д-р ветеринар. наук, проф., академик РАН, Витебск.

Редакционная коллегия

Н.Л. Андреева - д-р биол. наук, проф., СПб.

Л.М. Белова - д-р биол. наук, проф., СПб.

М.И. Гулюкин - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Москва.

Н.В. Зеленецкий - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.

С.П. Ковалев - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.

А.А. Кудряшов - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.

В.А. Кузьмин - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.

М.Н. Макарова - д-р мед. наук, проф., СПб.

Б.С. Семенов - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.

А.М. Смирнов - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Москва.

В.В. Сочнев - член-корр. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Новгород.

А.А. Стекольников - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., СПб.

А.А. Сухинин - д-р биол. наук, проф., СПб.

А.Н. Шиков - д-р фарм. наук, проф., СПб.

Mustafa Atasever - Prof., Dr. Erzurum, Türkiye.

Ю.К. Ковалёнок - д-р ветеринар. наук, проф., Витебск, Республика Беларусь.

Kushvar Galib Mammadova - Dr., Azerbaijan.

Н.Б. Сарсембаева - д-р ветеринар. наук, проф., Алматы, Республика Казахстан.

Iliia Tsachev - DVM, MSc, PhD, DSc Prof., Stara Zagora, Bulgaria.

О.Ю. Беснятых - д-р биол. наук, доц., Киров.

В.А. Илюха - д-р биол. наук, доц., Петрозаводск.

И.А. Плотников - д-р биол. наук, проф., Киров.

С.В. Бекетов - д-р биол. наук, вед. науч. сотр., Самара.

В.Н. Воронин - д-р биол. наук, проф., СПб.

А.Н. Квочко - д-р биол. наук, проф., Ставрополь.

А.О. Фролов - д-р биол. наук, гл. науч. сотр., СПб.

О.И. Станишевская - д-р биол. наук, проф., СПб.

А.Е. Болгов - д-р с.-х. наук, проф., Петрозаводск.

И.Ш. Шаниев - д-р с.-х. наук, проф., СПб.

Н.В. Пристач - д-р с.-х. наук, проф., СПб.

В.Б. Галецкий - д-р с.-х. наук, СПб.

Л.В. Романенко - д-р с.-х. наук, член РАЕ, СПб

В.И. Максимов - д-р биол. наук, проф., Москва

Редакционно-технический отдел

С. И. Мельников - канд. ветеринар. наук, СПб.

О.С. Попова - канд. ветеринар. наук, СПб.

В.В. Крюкова - канд. ветеринар. наук, СПб (англ. яз)

Сдано в набор 09.06.2025

Подписано к печати 20.06.2025

Формат 70×100 1/16.

Бумага гляnceвая № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 25,75+0,25 цв. вкл.

Усл. Кр.-отт. 18,2.

Тираж 1001 экз.

Editorial council

K.V. Plemashov - member-corr. RAS, Doctor of Science, prof., St. Petersburg

L.Y. Karpenko - deputy editor, doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg.

A.I. Yatusovich - deputy chief editor, doctor of veterinary sciences, professor, academic of RAS, Vitebsk.

Editorial council

N.L. Andreeva - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg

L. M. Belova - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg

M.I. Gulyukin - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow

N.V. Zelenetskiy - doctor of veterinary medicine, doctor of economics, prof, St. Petersburg.

S. P. Kovalev - doctor of veterinary sciences, prof., St. Petersburg.

A.A. Kudryashov - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg.

V. A. Kuzmin - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg.

M.N. Makarova - doctor of medicine, professor, St. Petersburg.

B.S. Semenov - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg

A.M. Smirnov - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow

V.V. Sochnev - corr. member of RAS, doctor of vet. sciences, prof., N. Novgorod.

A.A. Stekolnikov - editor in chief, academic of RAS, doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg

A.A. Sukhinin - doctor of biology sciences., prof, St. Petersburg

A.N. Shikov - doctor of pharmacology sciences, prof., St. Petersburg

Mustafa Atasever - professor., Dr. Erzurum, Turkey

Y.K. Kovalenok - doctor of veterinary sciences, prof., Vitebsk

Kushva Galiba Mammadova - doctor, Azerbaijan

N.B. Sarsembayeva - doctor of vet. sciences, prof., Almaty, Republic of Kazakhstan

Iliia Tsachev - DVM, MSc, PhD, DSc, Prof., Stara Zagora, Bulgaria

O.Yu. Bespyatykh - doctor of biology sciences, associate professor, Kirov

V.A. Ilyuha - doctor of biology sciences, associate professor, Petrozavodsk

I.A. Plotnikov - doctor of biology sciences, professor, Kirov

S.V. Beketov - doctor of biology sciences, Samara

V.N. Voronin - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg

A.N. Kvachko - doctor of biology sciences, professor, Stavropol

A.O. Frolov - doctor of biology sciences, senior science member, St. Petersburg

O.I. Stanishevskaya - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg

A.E. Bolgov - doctor of agricultural sciences, professor, Petrozavodsk

I.S. Shapiev - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg

N.V. Pristach - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg

V.B. Galetsky - doctor of agricultural sciences, St. Petersburg.

L.V. Romanenko - doctor of agricultural sciences, member of RAE, St. Petersburg

V.I. Maximov - doctor of biology sciences, professor, Moscow

Editorial and technical Department

S.I. Melnikov - PhD of Vet. Med., St. Petersburg

O.S. Popova - PhD of Vet Med., St. Petersburg

V.V. Kriukova - PhD of Vet Med., St. Petersburg (English)

Sent to 09.06.2025

Signed for printing 20.06.2025

The format of 100 × 70 1/16.

Glossy paper number 1. Offset printing.

Conv. Pec. liter. 25,75+0,25 fl. incl.

Conv. Cr. - ott. 18.2.

Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

**НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ
ЖУРНАЛ**

Номер госрегистрации СМИ ПИ № ФС77-83832 от 02 сентября 2022 г. Подписной индекс в агентстве Роспечать 82393.

Учредитель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный ветеринарный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Журнал основан в январе 2004 года в Санкт-Петербурге и входит в список ведущих рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

MBV входит в базу данных Russian Science Citation Index.

Журнал распространяется по всем регионам России и Республике Беларусь (ВУЗЫ, НИИ, ВЕТЕРИНАРНЫЕ ОТДЕЛЫ).

Журнал выходит не менее 4 раз в год. В нем публикуются работы по всем основным вопросам ветеринарии и смежным дисциплинам.

В этот журнал Вы можете поместить рекламу Вашей фирмы. Объявления и коммерческая реклама публикуются после оплаты. Срок исполнения — в течение 3 месяцев.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Мнение авторов и редакции по отдельным вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи не взимается.

Справки и технические возможности типографии, в которой печатается журнал, оговариваются по телефону (812) 387-11-58.

Адрес редакции: 196084, СПб, ул. Черниговская дом 5, СПбГУВМ, редакция журнала «Международный вестник ветеринарии» (MBV). тел 8-812-387-11-58

**RESEARCH AND PRODUCTION
JOURNAL**

The state registration number of the media PI No. FS77-83832 dated September 02, 2022. The subscription index in the Rospechat agency is 82393.

Founder — Federal state educational institution of higher professional education "Saint-Petersburg state University of veterinary medicine" (FSEI of HPE SpbGUVM).

The journal was founded in January 2004 in St. Petersburg and is included in the list of leading peer-reviewed scientific journals in which the main scientific results of dissertations for the degree of doctor and candidate of Sciences should be published.

International Bulletin of Veterinary Medicine is included in the Russian Science Citation Index database.

The journal is distributed in all regions of Russia and the Republic of Belarus (universities, research institutions, veterinary departments).

The magazine is published at least 4 times a year. It publishes papers on all major issues of veterinary medicine and related disciplines.

In this magazine, you can place an advertisement for your company. Ads and commercial information are published after payment. The execution period is within 3 months.

The editorial board is not responsible for the content of advertisement.

When reprinting, a link to the journal is required.

The opinion of the authors and the editorial board on certain issues may not coincide.

Postgraduates are not charged for the publication of the manuscript.

Information and technical capabilities of the printing house where the magazine is printed are discussed by phone number (812) 387-11-58.

Editorial office address: 196084, St. Petersburg, Chernigovskaya str. 5, "SPbGUVM", editorial office of the journal "International Bulletin of Veterinary Medicine" (MBV).

СОДЕРЖАНИЕ

Инфекционные болезни	• Характеристика микробиома кишечника у телят при диарее. Николаев С.В., Филатов А.В., Бессолицына Е.А.	12
	• Анализ относительного содержания пробиотических бактерий в кишечнике сельскохозяйственных животных с помощью генетических методов. Сыромятников М.Ю., Нестерова Е.Ю., Гладких М.И., Михайлов Е.В., Корнеева О.С.	20
	• Изыскание генетических маркеров для ПЦР-РВ индикации возбудителя вирусной геморрагической септицемии рыб. Громова Е.А., Миргазов Д.А., Додонова Е.А., Осянин К.А., Горбунова М.Е., Макаева А.Р.	30
	• Особенности лечения цыплят, зараженных <i>Staphylococcus aureus</i> с различной чувствительностью к антимикробным препаратам. Юрин Д.В., Скворцов В.Н., Логвинова С.С., Лопунов С.В.	39
	• Оценка безопасности и безвредности рекомбинантного кандидатного штамма для профилактики высокопатогенного гриппа птиц H5N1. Тарлавин Н.В., Веретенников В.В., Джавадов Э.Д., Сергеева М.В., Кудря К.С., Красков Д.А., Яковлева А.С., Горбаков М.Е., Калиматова А.А., Хрипункова Д.С.	46
	• Разработка олигонуклеотидных праймеров для идентификации материала вируса весенней виремии карпа (<i>Cyprinus carpio</i>) полимеразно-цепной реакции. Сибгатуллова А.К., Падило Л.П., Агольцов В.А., Черных О.Ю.	54
	• Антибиотикорезистентность и альтернативные методы профилактики и борьбы с бактериальными инфекциями. Гусев А.А., Авилов В.М., Стекольников А.А., Енгашев С.В.	62
Инвазионные болезни	• Биологические свойства и генетические характеристики <i>Ornithobacterium Rhinotracheale</i> in Vivo и in Vitro. Моторыгин А.В., Ленёв С.В., Пирожков М.К., Прасолова О.В., Абросимова Н.С., Бабицева О.В., Русанов И.А., Литвинов Н.А., Путинцева А.В., Кирсанова Н.А.	75
	• Эффективность и влияние на функциональное состояние собак и кошек инсектицидных капель Неотерика протекто 4 при Ктеноцефалидозе. Глазунова Л.А., Чудинова И.А., Глазунов Ю.В., Ткачева Ю.А., Сидорова К.А.	85
Фармакология, токсикология, фармация	• Применение фитобиотика на основе эфирных масел для повышения иммунного статуса цыплят-бройлеров. Лыско С.Б., Гофман А.А., Задорожная М.В., Сунцова О.А., Власенко В.С.	96
	• Мембранный резерв эритроцитов утят под действием ципрофлоксацина в условиях экспериментальной стафилококковой инфекции. Присный А.А., Гребцова Е.А., Скворцов В.Н., Кравцова А.Р.	105
	• Сравнительный анализ влияния антимикробных препаратов из групп сульфаниламидов и нитрофуранов на лейкограмму крови цыплят. Присный А.А., Потапова М.С., Степанова Т.В., Кравцова А.Р.	112
	• Влияние препарата «Простимул» на митотическую активность клеток тощей кишки у поросят с перинатальной гипотрофией. Шутиков В.А.	120

	• Изучение поведенческих изменений у крыс в динамике при хроническом стрессе и применении парацетамола. Гизатуллина А.А., Смолянкин Д.А., Каримов Д.О., Каримов Д.Д., Валова Я.В., Хуснутдинова Н.Ю.	133
	• Аппликационная биополимерная лекарственная форма с растительными экстрактами. Метлева А.С.	142
	• Определение сенсibilизирующей активности геля с октенидином дигидрохлоридом. Иванова К., Лунегов А.М.	148
Зоогигиена, санитария, кормление	• Динамика аминокислотного состава свинины с дефектами качества при хранении. Калюжная Т.В.	154
	• Молочная продуктивность коров голштинской и чёрно-пёстрой пород при тепловом стрессе. Ковалева Г.П., Лапина М.Н., Сулыга Н.В., Витол В.А.	162
	• Оценка влияния иммуномодулятора «Азоксивет» на факторы специфического и неспецифического иммунитета цыплят-бройлеров. Коренюга М.В., Куванов Т.К., Капитонова Е.А.	168
	• Экспрессия генов антиоксидантной защиты и иммунитета в тканях цыплят-бройлеров под влиянием комплекса адаптогенов. Вьючная П.С., Лахонин П.Д., Бардуков Н.В., Боголюбова Н.В.	176
	• Актуальность поиска маркеров и индикаторов термотолерантности у крупного рогатого скота (обзор). Сафина Н.Ю., Муханина Е.Н., Шакиров Ш.К., Гайнутдинова Э.Р.	190
Биохимия, морфология, физиология	• Гистологическая характеристика аденокарциномы молочной железы у декоративных крыс. Патрикеев Н.В., Зирук И.В.	201
	• Анатомо-топографические особенности вен суставов пальцев свиньи. Кичеева Т.Г., Мельников С.И.	207
	• Адаптация ИФА набора Продоксин-афлатоксин В1 для определения концентрации Афлатоксина В1 в органах свиней. Панковец Е.М., Лях А.Л.	215
	• Систематизация коронарных артерий сердца млекопитающих. Хватов В.А., Былинская Д.С.	224
	• Иммунологический статус цыплят-бройлеров на фоне применения полисахаридной фракции бурых водорослей. Карпенко Л.Ю., Бахта А.А., Никонов И. Н.	232
	• Возрастные закономерности артериального русла области предплечья у соболей черной пушкинской породы. Чумаченко Б.В., Щипакин М.В.	239
	• Рентгеноанатомические показатели костного остова двигательного аппарата в оценке видовой и внутривидовой идентификации животных. Слесаренко Н.А., Щетинина Е.А., Плешаков Ф.Д., Широкова Е.О.	246
	• Анализ паттернов липидной инфильтрации при стеатозе макровезикулярного типа у карпа обыкновенного (<i>Cyprinus carpio</i>). Семенова Е.В.	258
	• Дозозависимые морфологические и молекулярно-генетические изменения в почках крыс при хроническом воздействии гидроксида алюминия. Якупова Т.Г., Смолянкин Д.А., Валова Я.В., Каримов Д.Д., Кулагин Е.А., Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О.	265

	• Оценка трипсина в дуоденальном содержимом и крови кур биохимическим и молекулярно-генетическими методами. Полина С.И., Вертипрахов В.Г., Карамушкина С.В., Лопатина В.В., Загарин А.Ю.	275
	• Возрастные изменения длины тела и параметров пищевода у перепелов породы фараон в эксперименте. Саенко Н.В.	282
	• Профилактическая стимуляция протективной функции печени крыс на фоне экспериментального афлатоксикоза. Стрельцова Я.Б., Юсупова К.В., Хафизова А.М., Кашиеваров Г.С., Матросова Л.Е., Танасева С.А., Домбровский В.О.	289
	• Относительный уровень экспрессии генов антиоксидантной защиты организма при респираторной патологии у телят. Шутиков В.А., Рудь Д.Е., Стрельников Н.А., Гунькин Д.В., Михайлов Е.В.	297
	• Анатомо-топографические особенности артериального русла почек у самцов соболя черной пушкинской породы в возрастном аспекте. Маленьких Н.А., Щипакин М.В.	304
	• Венозное русло реберношейного ствола у телят черно-пестрой породы. Мельников С.И., Турсина С.С.	313
Акушерство и гинекология	• Полиморфизм генов FSHR и INHBA у собак различных пород. Богданова С.С., Крутикова А.А., Никиткина Е.В., Рябова А.Е., Мусидрай А.А., Племяшов К.В., Волков К.С., Анипченко П.С.	321
	• Сравнительное исследование концентрации биохимических компонентов и стероидных гормонов в фолликулярной жидкости и крови кобыл в весеннем переходном периоде и в случном сезоне. Калашиников В.В., Лебедева Л.Ф., Солодова Е.В., Сакаев В.А., Бородинкина Е.Ю., Дубровская А.Б.	328
	• Влияние производных мезенхимальных стволовых клеток на переживаемость сперматозоидов бычков-производителей. Корочкина Е.А., Трифонова А.В., Бахтурина Е.И.	338
	• Изменения биохимических показателей сыворотки крови при послеродовом парезе у коров. Герунова Л.К., Кирюхина Е.А., Шитиков В.В.	348
Хирургия	• Особенности концентрации антимюллерова гормона и биохимических показателей крови коров-доноров в фолликулярную фазу полового цикла. Козицины А.И., Карпенко Л.Ю., Никитин Г.С., Ачилов В.В., Олонцев В.А., Семенова В.С.	357
	• Сравнительная способность тромбоцитов, выделенных из образцов крови, стабилизированных цитратом натрия, эдта или гепарином, к агрегации в ответ на активацию некоторыми агонистами. Минина А.О., Бокарев А.В., Холодный Р.Д.	364
	• Сравнительная оценка эффективности двух способов кастрации бычков абердин-ангусов. Симонов Ю.И., Черненко В.В., Симонова Л.Н., Черненко Ю.Н., Семенов Б.С.	376
Незаразные болезни	• Профилактическое применение пробиотической добавки «Гидролактив» у телят при желудочно-кишечных заболеваниях и ее влияние на формирование микробиома кишечника. Ришко О.А., Прусаков А.В., Яшин А.В.	383

- *Изменение сывоточного амилоида А кошек и С-реактивного белка собак при пневмониях. Градова Ю.В., Ковалев С.П.* **391**
- *Терапия фиброзов сухожилий конечностей у лошадей с использованием лекарственного электрофореза со средством «Ферменкол». Кострова А.А.* **397**
- *Клиническая и морфофункциональная оценка эффективности функциональной кормовой добавки на основе культуральной среды *Medusomyces gisevii* и полисахарида при диарее у телят. Бойко Т.В., Шитиков В.В., Камалтинова К.Н.* **404**

CONTENTS

Infectious diseases	• <i>Characteristics of the intestinal microbiome in calves with diarrhea.</i> Nikolaev S.V., Filatov A.V., Bessolitsyna E.A.	12
	• <i>Analysis of the relative content of probiotic bacteria in the intestines of farm animals using genetic methods.</i> Syromyatnikov M.Yu., Nesterova E.Yu., Gladkikh M.I., Mikhailov E.V., Korneeva O.S.	20
	• <i>Search for genetic markers for PCR-RV indication of the causative agent of viral hemorrhagic septicemia in fish.</i> Gromova E.A., Mirgazov D.A., Dodonova E.A., Osyanin K.A., Gorbunova M.E., Makaeva A.R.	30
	• <i>Features of treatment of chickens infected with Staphylococcus aureus with different sensitivity to antimicrobial drugs.</i> Yurin D.V., Skvortsov V.N., Logvinova S.S., Lopunov S.V.	39
	• <i>Assessment of the safety and harmlessness of a recombinant candidate strain for the prevention of highly pathogenic H5N1 avian influenza.</i> Tarlavin N.V., Veretennikov V.V., Javadov E.D., Sergeeva M.V., Kudrya K.S., Kraskov D.A., Yakovleva A.S., Gorbakov M.E., Kalimatova A.A., Khripunkova D.S.	46
	• <i>Development of oligonucleotide primers for identification of the spring carp viremia virus (Cyprinus carpio) by polymerase chain reaction.</i> Sibgatullova A.K., Padilo L.P., Agoltsov V.A., Chernykh O.Yu.	54
	• <i>Antibiotic resistance and alternative methods of prevention and control of bacterial infections.</i> Gusev A.A., Avilov V.M., Stekolnikov A.A., Engashev S.V.	62
Invasive diseases	• <i>Not ornithobacterium rhinotracheale in vitro in vivo not biological characteristics genetic properties.</i> But It's Beautiful.V., S. Lenev.V., M. Pirozhkova.K., Not Prasolova.V., Abrosimova N.S., Not Babichev.V., Not Rusanova.A., Litvinov N.A., and Putintseva.V., Kirsanova N.A.	75
	• <i>Efficacy and effect on the functional state of dogs and cats of insecticidal drops of Neoteric protector 4 in Ctenocephalidosis.</i> Glazunova L.A., Chudinova I.A., Glazunov Yu.V., Tkacheva Yu.A., Sidorova K.A.	85
Pharmacology, toxicology, pharmacy	• <i>The use of phytobiotics based on essential oils to enhance the immune status of broiler chickens.</i> Lysko S.B., Hoffman A.A., Zadorozhnaya M.V., Suntsova O.A., Vlasenko V.S.	96
	• <i>Membrane reserve of ducklings' erythrocytes under the influence of ciprofloxacin in conditions of experimental staphylococcal infection.</i> Prisny A.A., Grebtsova E.A., Skvortsov V.N., Kravtsova A.R.	105
	• <i>Comparative analysis of the effect of antimicrobial drugs from the groups of sulfonamides and nitrofurans on the blood leukogram of chickens.</i> Prisny A.A., Potapova M.S., Stepanova T.V., Kravtsova A.R.	112
	• <i>The effect of the drug "Prostimul" on the mitotic activity of jejunum cells in piglets with perinatal hypotrophy.</i> Shutikov V.A.	120
	• <i>To study the dynamics of behavioral changes in rats under chronic stress and the use of paracetamol.</i> Gizatullina A.A., Smolyankin D.A., Karimov D.O., Karimov D.D., Valova Ya.V., Khusnutdinova N.Yu.	133
	• <i>Application biopolymer dosage form with plant extracts.</i> A.S. Metleva.	142
	• <i>Determination of the sensitizing activity of a gel with octenidine dihydrochloride.</i> Ivanova K., Lunegov A.M.	148

Zoohygiene, sanitation, feeding	•Dynamics of amino acid composition of pork with quality defects during storage. Kalyuzhnaya T.V.	154
	•Milk productivity of Holstein and black-and-white cows under heat stress. Kovaleva G.P., Lapina M.N., Sulyga N.V., Vitol V.A.	162
	•Evaluation of the effect of the immunomodulator "Azoxivet" on the factors of specific and nonspecific immunity of broiler chickens. Korenyuga M.V., Kuvanov T.K., Kapitonova E.A.	168
	•Expression of antioxidant protection and immunity genes in broiler chicken tissues under the influence of a complex of adaptogens. Vyuchnaya P.S., Lakhonin P.D., Bardukov N.V., Bogolyubova N.V.	176
	•The relevance of the search for markers and indicators of thermal tolerance in cattle (review). Safina N.Y., Makhonina E.N., Shakirov S.K., Gai-nutdinova E.R.	190
Biochemistry, morphology, physiology	•Histological characteristics of mammary adenocarcinoma in ornamental rats. Patrikeev N.V., Ziruk I.V.	201
	•Anatomical and topographic features of the veins of the pig's finger joints. Kicheeva T.G., Melnikov S.I.	207
	•Adaptation of the Prodoxin-aflatoxin B1 ELISA kit to determine the concentration of Aflatoxin B1 in pig organs. Pankovets E.M., Lyakh A.L.	215
	•Systematization of mammalian coronary arteries. Khvatov V.A., Bylin-skaya D.S.	224
	•The immunological status of broiler chickens against the background of the use of polysaccharide fraction of brown algae. Karpenko L.Yu., Bakhta A.A., Nikonov I. N.	232
	•Age-related patterns of the arterial bed of the forearm area in black Pushkin sables. Chumachenko B.V., Shchipakin M.V.	239
	•X-ray anatomical parameters of the skeletal skeleton of the motor apparatus in the assessment of species and intraspecific identification of animals. Slesarenko N.A., Shchetinina E.A., Pleshakov F.D., Shirokova E.O.	246
	•Analysis of lipid infiltration patterns in macrovesicular type steatosis in common carp (<i>Cyprinus carpio</i>). Semenova E.V.	258
	•Dose-dependent morphological and molecular genetic changes in rat kidneys during chronic exposure to aluminum hydroxide. Yakupova T.G., Smolyankin D.A., Valova Ya.V., Karimov D.D., Kulagin E.A., Mukham-madieva G.F., Karimov D.O.	265
	•Evaluation of trypsin in the duodenal contents and blood of chickens by biochemical and molecular genetic methods. Polina S.I., Vertiprakhov V.G., Karamushkina S.V., Lopatina V.V., Zagarin A.Yu.	275
	•Age-related changes in body length and esophageal parameters in Pharaoh quails in an experiment. Sayenko N.V.	282
	•Prophylactic stimulation of protective liver function in rats against the background of experimental aflatoxicosis. Streltsova Ya.B., Yusupova K.V., Khafizova A.M., Kashevarov G.S., Matrosova L.E., Tanaeva S.A., Dombrovsky V.O.	289
	•The relative level of expression of antioxidant protection genes in calves with respiratory pathology. Shutikov V.A., Rud D.E., Strelnikov N.A., Gunkin D.V., Mikhailov E.V.	297

Obstetrics, gynecology	•Anatomical and topographic features of the arterial kidney bed in males of the black Pushkin sable breed in the age aspect. Malykh N.A., Shchipakin M.V.	304
	•Venous bed of the rib-necked trunk in black-and-white calves. Melnikov S.I., Tursina S.S.	313
	•Polymorphism of the FSHR and INHBA genes in dogs of various breeds. Bogdanova S.S., Krutikova A.A., Nikitina E.V., Ryabova A.E., Musidray A.A., Plemiyashov K.V., Volkov K.S., Anipchenko P.S.	321
	•Comparative study of the concentration of biochemical components and steroid hormones in the follicular fluid and blood of mares in the spring transition period and in the breeding season. Kalashnikov V.V., Lebedeva L.F., Solodova E.V., Sakaev V.A., Borodkina E.Yu., Dubrovskaya A.B.	328
	•The effect of mesenchymal stem cell derivatives on sperm survival in breeding bulls. Korochkina E.A., Trifonova A.V., Bakhturina E.I.	338
	•Changes in biochemical parameters of blood serum during postpartum paresis in cows. Gerunova L.K., Kiryukhina E.A., Shitikov V.V.	348
Surgery	•Features of antimuller hormone concentration and biochemical parameters of blood of donor cows in the follicular phase of the reproductive cycle. Kozitsyna A.I., Karpenko L.Yu., Nikitin G.S., Achilov V.V., Olontsev V.A., Semenova V.S.	357
	•The comparative ability of platelets isolated from blood samples stabilized with sodium citrate, edta, or heparin to aggregate in response to activation by certain agonists. Minina A.O., Bokarev A.V., Kholodny R.D.	364
	•Comparative evaluation of the effectiveness of two methods of castration of Aberdeen Angus bulls. Simonov Yu.I., Chernenok V.V., Simonova L.N., Chernenok Yu.N., Semenov B.S.	376
Non-communicable diseases	•Preventive use of probiotic supplement "Hydrolaktiv" in calves with gastrointestinal diseases and its effect on the formation of the intestinal microbiome. Rishko O.A., Prusakov A.V., Yashin A.V.	383
	•Changes in serum amyloid A of cats and C-reactive protein of dogs in pneumonia. Gradova Yu.V., Kovalev S.P.	391
	•Therapy of fibrosis of limb tendons in horses using medicinal electrophoresis with Fermencol. Kostrova A.A.	397
	•Clinical and morphofunctional evaluation of the effectiveness of a functional feed additive based on the culture medium of <i>Medusomyces gisevii</i> and polysaccharide for diarrhea in calves. Boyko T.V., Shitikov V.V., Kamaltinova K.N.	404



ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 636.034: 579.676

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.2.12

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА У ТЕЛЯТ ПРИ ДИАРЕЕ

Николаев С.В. * – канд. ветеринар. наук., вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5485-4616); **Филатов А.В.** – д-р ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-4557-844x); **Бессолицына Е.А.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-5582-1709).

Институт агробиотехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра
УрО РАН

* semen.nikolaev.90@mail.ru

Ключевые слова: телята, диарейный синдром, микрофлора кишечника, симбионтные бактерии, патогенные микроорганизмы.

Keywords: calves, diarrheal syndrome, intestinal microflora, symbiont bacteria, pathogenic microorganisms.

Поступила: 14.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Целью исследований явилось оценка микробиоценоза кишечника телят при расстройстве пищеварения. Для экспериментальной работы было сформировано 2 группы молодняка айрширской породы в возрасте от 5 до 10 дней. В первую группу вошли 6 здоровых телят, во вторую – 6 больных диареей. От животных из прямой кишки отбирали пробы фекалии и исследовали молекулярно-генетическим методом. Изменения микробиома при диарее сопровождались увеличением общей микробной массы в кишечном содержимом (на $1 \times 10^{8,2}$), что указывало на активизацию размножения бактерий и неспособность организма подавлять их рост. В структуре фекальной микробиоты здоровых телят, 78,3% от общего количества микробной ДНК приходилось на нормофлору, а у больных, данный показатель составил 49,1%. В микробиоте телят с диареей наблюдалось увеличение потенциально-патогенных видов до 50,9 абс.%. Из патогенных и условно-патогенных микроорганизмов росла концентрация бактерии семейства *Enterobacteriaceae* на 7,36 абс. %, *Sneathia spp.*, *Leptotrichia spp.*, *Fusobacterium spp.* на 21,47 абс. %, *Staphylococcus spp.* на 0,01 абс.%. Так же отмечался рост представителей нормофлоры: *Lachnobacterium spp.*, *Clostridium spp.* и *Lactobacillus spp.* Увеличение концентрации молочнокислых микроорганизмов в фекальной микробиоте у больных телят, по видимости было связано с нарушением усвоения лактозы. Возможным пусковым механизмом заболевания у исследуемых животных явилась дисфункция органов пищеварения, а изменения микробиоты произошло на фоне формирования благоприятной среды для определенных групп микроорганизмов. Таким образом, полученные данные позволят разработать методы коррекции микробиома и снизить риск развития патологий ЖКТ у крупного рогатого скота.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современном молочном скотоводстве наблюдается тенденция снижения естественной резистентности у животных. В первую очередь это обусловлено различными метаболическими нарушениями. Вследствие дисфункции обменных процессов в организме матери их негативное воздействие проявляется уже на начальном этапе эмбрионального развития [1, 2, 3]. В результате может наблюдаться внутриутробная гибель или рождение ослабленного потомства [4, 5].

Ранний постнатальный период представляет собой критический этап в онтогенезе. Сразу после появления на свет организм активно приспосабливается к окружающей среде, происходит заселение слизистых оболочек и кожных покровов, включая органы пищеварения, разнообразными микроорганизмами [6, 7]. В первые дни постнатального развития микроорганизмы, попадающие в организм через ротовую полость, формируют сложную экосистему желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и оказывают значительное влияние на жизнеспособность и будущее здоровье потомства [8].

Микробиота ЖКТ представляет собой сложный биоценоз, включающий в себя разнообразные микроорганизмы, такие как бактерии, грибы, простейшие и т.д., которые сосуществуют в симбиозе, обеспечивая гармоничное функционирование пищеварительной системы. Нарушение баланса микроэкологии, известное как дисбактериоз, может быть связано с различными заболеваниями органов пищеварения, а восстановление нормальной микробиоты играет первостепенную роль в выздоровлении. Исследования в этой области показывают тесную связь состава фекального микроценоза с состоянием здоровья, однако остается неясным, как именно микробный пейзаж изменяется при различных патологиях ЖКТ [9, 10]. Поэтому, изучение роли микробиоты у телят, страдающих диареей, представляет собой значимый этап в понимании этиопатогенеза данного заболевания. Полученные данные помогут спрогнозировать

исход патологии и разработать стратегию управления микробным сообществом.

Цель исследований – изучить особенности микробиоценоза кишечника телят при расстройстве пищеварения, которое сопровождается диареей.

Результаты проведенного исследования представляют собой часть работы, по изучению воздействия микробиома родовых путей матери, а также характеристик молозива на формирование микробиоценоза ЖКТ потомства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в 2024 году на молочно-товарной ферме ООО «Небдинский» Корткеросского района Республики Коми. Хозяйство специализируется на разведении айрширского скота со средней продуктивностью 8 тыс. кг молока в год. Для экспериментальной работы было сформировано 2 группы телят в возрасте от 5 до 10 дней. Молодняк находился в одинаковых условиях содержания и кормления. В первую группу вошли телята (n=6), не имеющие каких-либо клинических отклонений, во вторую (n=6) – с признаками диареи. От всех животных из прямой кишки при помощи стерильной одноразовой ложки Фолькмана проводили отбор фекалий. Пробы помещали в пробирку типа «Эппендорф» с транспортной средой «Стор-М» (ООО «ДНК-Технология» г. Москва).

Микробиом ЖКТ изучали молекулярно-генетическим методом, для чего пробы фекалий гомогенизировали путем встряхивания, центрифугировали при 15 тыс. об. в течение 10 минут, надосадочную жидкость удаляли и отбирали 0,1 г осадка. Выделение ДНК проводили с использованием набора «Проба-НК-Плюс» (ООО «ДНК-Технология», г. Москва) согласно инструкции производителя. Исследование микробиома осуществляли путем постановки ПЦР в реальном времени с применением тест-системы Фемофлор® 16 (ООО «ДНК-Технология», г. Москва). Реакцию проводили на детектирующем амплификаторе «ДТлайт 4S1» в режиме, рекомендованном производителем для данного набора.

Специфичность генотипирования проверяли контрольными образцами, входящими в состав диагностического комплекса.

Статистический анализ проведен путем вычисления средней арифметической и стандартной ошибки, достоверность различий сравнимых величин установлена при применении t-критерия Стьюдента с использованием пакета программ Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Количественная характеристика микробиоценоза ЖКТ здоровых и с клиническими признаками диареи телят представлена в таблице 1.

Согласно молекулярно-генетическому анализу, изменения микробиома при расстройстве пищеварения, сопровождалось увеличением общей микробной массы в кишечном содержимом (на $1 \times 10^{8,2}$), что указывает на активизацию скорости размножения бактерий и не способностью организма животного подавлять их чрезмерный рост.

На фоне диареи у телят происходили выраженные изменения количественного состава кишечной микрофлоры. Так у больных животных, в фекальной микробиоте регистрировали большее количество ДНК-последовательностей, принадлежащих бактериям *Lactobacillus spp.* (на $10^{6,70}$), *Streptococcus spp.* (на $10^{4,22}$), *Staphylococcus spp.* (на $10^{3,78}$; $P \leq 0,001$), *Eubacterium spp.* (на $10^{5,73}$), *Sneathia spp.*, *Leptotrichia spp.*, *Fusobacterium spp.* (на $10^{8,03}$), *Mobiluncus spp.*, *Corynebacterium spp.* (на $10^{5,29}$), *Atopobium vaginae* (на $10^{1,01}$) и сем. *Enterobacteriaceae* (на $10^{6,79}$). У здоровых телят микробиоценоз содержимого конечного отдела толстой кишки характеризовался большим количеством бактерий рода *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas spp.* (на $10^{7,44}$), *Lachnobacterium spp.*, *Clostridium spp.* (на $10^{7,95}$), *Peptostreptococcus spp.* (на $10^{5,65}$) и дрожжеподобных грибов *Candida spp.* (на $10^{3,49}$). Вероятно, уменьшение концентрации данных микроорганизмов у больных телят связано с ускорением роста других бактерий, которые способ-

ны конкурировать с ними за субстрат и подавлять их размножение. В частности, увеличение количества лактобактерий препятствует размножению дрожжеподобных грибов.

В результате анализа относительной структуры фекальной микробиоты установлено (таблица 2), что у здоровых телят представители нормофлоры ЖКТ составляют 78,29% от общего количества микробной ДНК, а у животных, с признаками диареи, этот показатель снижается до 49,14%. У больного молодняка перераспределение бактериальной массы направлено в сторону увеличения условно-патогенных и патогенных видов. Так, патогенные и условно-патогенные представители ЖКТ при физиологическом состоянии организма составили 21,71 абс.%, а при патологии переваривания корма 50,86 абс.%. В частности, из потенциально-патогенных микроорганизмов в фекальной микрофлоре у больных телят отмечалось увеличение бактерий семейства *Enterobacteriaceae* на 7,36 абс.%, родов *Sneathia spp.*, *Leptotrichia spp.*, *Fusobacterium spp.* на 21,47 абс.% ($P \leq 0,05$) и *Staphylococcus spp.* на 0,01 абс.% ($P \leq 0,05$). Имеющиеся литературные данные свидетельствуют, что кишечный тракт новорождённых телят быстро колонизируют различные микроорганизмы, такие как энтеробактерии, клостридии, фузобактерии и энтерококки. При дисфункции ЖКТ данные бактерии способны вызывать раздражение кишечника и приводить к развитию диареи [11, 12].

У животных с клиническими признаками болезни среди нормофлоры так же отмечалось увеличение бактерий рода *Lachnobacterium spp.*, *Clostridium spp.* (на 12,16 абс.%; $P \leq 0,05$) и *Lactobacillus spp.* (на 4,91 абс.%). Как известно, в практике для профилактики и терапии диареи у животных используются пробиотических культуры *Lactobacillus*, которые синтезируют вещества, ингибирующие рост других микробных клеток, такие как органические кислоты, перекись водорода, диацетил, этанол и т.д.

Таблица 1 – Количественная характеристика микрофлоры кишечника телят (ДНК-геномов $1 \times 10^3/\text{г}$)

Показатель	Группа телят		Разница ([^])
	здоровые (n=6)	больные (n=6)	
Общая бактериальная масса	8,13±7,70	8,47±8,29	8,20
<i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Prevotella bivia</i> , <i>Porphyromonas spp.</i>	8,05±7,60	7,93±7,81	7,44
<i>Eubacterium spp.</i>	5,59±5,39	5,97±5,63	5,73
<i>Lactobacillus spp.</i>	6,20±5,82	6,82±6,57	6,70
<i>Megasphaera spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Dialister spp.</i>	6,99±6,88	6,67±6,32	6,71
<i>Lachnobacterium spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i>	7,41±6,99	8,06±7,89	7,95
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	5,94±5,66	5,63±5,19	5,65
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	7,24±6,90	7,37±7,01	6,79
<i>Mobiluncus spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i>	4,64±4,05	5,38±5,04	5,29
<i>Atopobium vaginae</i>	0,85±0,79	1,24±1,10	1,01
<i>Sneathia spp.</i> , <i>Leptotrichia spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i>	6,60±6,27	8,05±7,90	8,03
<i>Streptococcus spp.</i>	4,78±4,68	4,88±4,46	4,22
<i>Staphylococcus spp.</i>	2,85±2,46	3,82±3,11	3,78***
<i>Candida spp.</i>	3,81±3,53	3,54±3,05	3,49

Примечание: различия достоверны *** $P \leq 0,001$

[13, 14]. Метаболическая активность лактобактерий предотвращает рост и размножение условно-патогенных и патогенных видов, и играет важную роль в развитии и стабильности кишечной микробиоты [15].

Однако полученные нами данные, свидетельствуют, что при диарее у телят происходит рост числа лактобацилл. Схожую динамику наблюдали Slanzon G.S. et al. [16]. Согласно указанному исследованию, лактобациллы чаще встречается в фекальной микробиоте телят с заболеваниями органов пищеварения. По всей видимости, активизация размножения лактобактерий при диарее обусловлена нарушением усвоения лак-

тозы в ЖКТ, которая является основным питательным субстратом для молочнокислых организмов. Стоит отметить, что у телят в период до двухнедельного возраста, диарея, как правило, возникает вследствие диспепсии, т.е. по причине нарушения секреторной функции ЖКТ. Исходя из этого, можно предположить, что именно дисфункция органов пищеварения является пусковым механизмом заболевания у телят в данный период выращивания, а активизация и изменение состава микробиоты происходит на фоне формирования благоприятной среды для отдельных групп микроорганизмов.

Таблица 2 – Структура микрофлоры кишечника телят, абс. %

Микроорганизмы	Здоровые (n=6)	Больные (n=6)	Разница
Нормальная микрофлора			
<i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Prevotella bivia</i> , <i>Porphyromonas spp.</i>	59,17±8,75	13,61±6,13	-45,55***
<i>Eubacterium spp.</i>	0,18±0,12	1,47±1,04	1,29
<i>Lachnobacterium spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i>	13,69±3,48	25,86±3,47	12,16*
<i>Lactobacillus spp.</i>	1,07±0,36	5,98±4,46	4,91
<i>Megasphaera spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Dialister spp.</i>	4,18±1,19	2,22±0,54	-1,96
Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы			
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	0,37±0,19	0,47±0,33	0,10
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	17,07±7,15	24,43±12,45	7,36
<i>Mobiluncus spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i>	0,03±0,0001	0,20±0,14	0,17
<i>Atopobium vaginae</i>	0,01±0,0001	0,01±0,0001	0,00
<i>Sneathia spp.</i> , <i>Leptotrichia spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i>	4,19±2,74	25,66±9,79	21,47*
<i>Streptococcus spp.</i>	0,03±0,02	0,08±0,05	0,04
<i>Staphylococcus spp.</i>	0,005±0,0001	0,010±0,0001	0,005*
<i>Candida spp.</i>	0,010±0,0001	0,004±0,0001	0,006

Примечание: различия достоверны * $P \leq 0,05$; *** $P \leq 0,001$

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В содержимом конечного отдела кишечника здоровых и имеющих признаки диареи телят наблюдаются количественные различия в составе отдельных групп микроорганизмов. На фоне расстройства пищеварения происходит увеличение концентрации как представителей нормофлоры, так и вредных для ЖКТ микроорганизмов, однако сдвиг направлен преимущественно в сторону потенциально-патогенных видов. Наблюдаемый рост симбионтной микрофлоры, в виде лактобацилл, способных подавлять представителей нежелательной микробиоты, по видимости обусловлен нарушением усвоения углеводов, и свидетельствует о секреторной дисфункции органов пищеварения. Результаты исследования имеют

важное значение для формирования стратегии прогнозирования функциональности микробных сообществ, как в норме, так и при различных заболеваниях. Полученные данные позволят разработать эффективные методы коррекции микробиома и снизить риск развития патологий желудочно-кишечного тракта у крупного рогатого скота.

CHANGES IN THE INTESTINAL MICROBIOME IN CALVES WITH DIARRHEA

Nikolayev S.V. * – PhD, Senior Researcher (ORCID 0000-0001-5485-4616); **Filatov A.V.** – PhD, Senior Researcher (ORCID 0000-0003-4557-844x); **Bes-solitsyna E.A.** – PhD, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-5582-1709)

A.V. Zhuravsky Institute of Agrobiotechnology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

* semen.nikolaev.90@mail.ru

ABSTRACT

The aim of the research was to evaluate the microbiocenosis of the intestines of calves with digestive disorders. For experimental work, 2 groups of young Ayrshire cattle aged from 5 to 10 days were formed. The first group included 6 healthy calves, and the second group included 6 patients with diarrhea. Faeces were obtained from animals from the rectum and examined using the molecular genetic method. Changes in the microbiome during diarrhea were accompanied by an increase in the total microbial mass in the intestinal contents (by $1 \times 10^{8.2}$), which indicated the activation of bacterial reproduction and the inability of the body to suppress their growth. In the structure of the fecal microbiota of healthy calves, 78.3% of the total amount of microbial DNA was accounted for by the normoflora, and in patients this indicator was 49.1%. In the microbiota of calves with diarrhea, an increase in opportunistic and pathogenic species was observed to 50.9 abs.%. Of the undesirable microorganisms, the concentration of *Enterobacteriaceae* bacteria increased by 7.36 abs.%, *Sneathia* spp., *Leptotrichia* spp., *Fusobacterium* spp. by 21.47 abs.%, *Staphylococcus* spp. by 0.01 abs.%. There was also an increase in representatives of the normoflora: *Lachnobacterium* spp., *Clostridium* spp. and *Lactobacillus* spp. An increase in the concentration of lactic acid microorganisms in the fecal microbiota of sick calves is probably associated with impaired lactose absorption. A possible trigger of the disease in the calves under study is the dysfunction of the digestive system, and changes in the microbiota occur against the background of the formation of a favorable environment for certain groups of microorganisms. The data obtained will make it possible to develop effective methods for correcting the microbiome and reduce the risk of gas-

trointestinal pathologies in cattle.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Клинико-биохимическая оценка эффективности применения липосомальных антиоксидантных препаратов при гестозе беременных коров / С. Н. Тресницкий, В. С. Авдеенко, О. К. Кочарян, К. С. Бордюгов // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2017. – № 2. – С. 43-52.
2. Тресницкий С. Н. Состояние функционирования системы "мать-плацента-плод" при гестозе беременных коров на фоне субклинического кетоза / С. Н. Тресницкий, В. С. Авдеенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 2. – С. 105-108.
3. Морфо - биохимический статус крови коров с физиологическим и осложненным течением гестации / В. И. Михалев, В. Н. Скориков, Г. Г. Чусова [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2024. – № 1(26). – С. 76-87. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2024.1.76.
4. Михалев, В. И. Состояние новорожденного молодняка и коров-матерей в зависимости от характера беременности / В. И. Михалев, В. Н. Скориков // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2024. – Т. 60, № 2. – С. 42-46. – DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-2-42-46.
5. Метаболический статус коров при поддержке внутриутробного развития эмбриона и плода / А. Г. Нежданов, В. И. Михалев, Г. Г. Чусова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51, № 2. – С. 230-237. – DOI 10.15389/agrobiology.2016.2.230rus.
6. Deng F., McClure M., Rorie R., Wang X., Chai J., Wei X., Lai S., Zhao J. The vaginal and fecal microbiomes are related to pregnancy status in beef heifers. J Anim Sci Biotechnol. 2019;10: 92. doi: 10.1186/s40104-019-0401-2.
7. Zhukov M.S., Alekhin Yu.N. Detection of the upper respiratory tract bacteria in new born calves. Reproduction in domestic animals. 2022; 57 (S1): 97. DOI: 10.1111/

rda.14052

8. Филатов А. В. Эффективность раннего применения пробиотического препарата при выращивании телят / А. В. Филатов, С. В. Николаев, А. С. Сюткина // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 3. – С. 155-161. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.3.155.

9. Kim, E.-T.; Lee, S.-J.; Kim, T.-Y.; Lee, H.-G.; Atikur, R.M.; Gu, B.-H.; Kim, D.-H.; Park, B.-Y.; Son, J.-K.; Kim, M.-H. Dynamic Changes in Fecal Microbial Communities of Neonatal Dairy Calves by Aging and Diarrhea. *Animals* 2021, 11, 1113.

10. Gomez, D.; Arroyo, L.; Costa, M.; Viel, L.; Weese, J. Characterization of the Fecal Bacterial Microbiota of Healthy and Diarrheic Dairy Calves. *J. Vet. Intern. Med.* 2017, 31, 928–939. <https://doi.org/10.1111/jvim.14695>.

11. Cho YI, Yoon KJ. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J Vet Sci.* 2014;15(1):1–17. <https://doi.org/10.4142/jvs.2014.15.1.1>.

12. Chen, H., Liu, Y., Huang, K. et al. Fecal microbiota dynamics and its relationship to diarrhea and health in dairy calves. *J Animal Sci Biotechnol.* 2022; 13:132. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00758-4>.

13. Fernández S, Fraga M, Castells M, Colina R, Zunino P. Effect of the administration of *Lactobacillus* spp. strains on neonatal diarrhoea, immune parameters and pathogen abundance in pre-weaned calves. *Benef Microbes.* 2020;11(5):477–88. DOI: 10.3920/BM2019.0167

14. Millette, M., Luquet, F. M., and Lacroix, M. In vitro growth control of selected pathogens by *Lactobacillus acidophilus*- and *Lactobacillus casei*-fermented milk. *Lett. Appl. Microbiol.* 2007; 44: 314–319. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2006.02060.x

15. Mokoena MP. Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules.* 2017; 22(8):1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>

16. Slanzon G.S., Ridenhour B.J., Moore D.A., Sischo W.M., Parrish L.M., Trombetta S.C., et al. (2022) Fecal microbiome profiles

of neonatal dairy calves with varying severities of gastrointestinal disease. *PLoS ONE.* 2022;17(1): 0262317. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262317>.

REFERENCES

1. Clinical and biochemical assessment of the effectiveness of liposomal antioxidant drugs in gestosis of pregnant cows / S. N. Tresnitsky, V. S. Avdeenko, O. K. Kocharyan, K. S. Bordyugov // *Bulletin of Michurinsk State Agrarian University.* – 2017. – No. 2. – pp. 43-52.

2. Tresnitsky S. N. The state of functioning of the "mother-placenta-fetus" system in pregnant cows with gestosis against the background of subclinical ketosis / S. N. Tresnitsky, V. S. Avdeenko // *Issues of regulatory regulation in veterinary medicine.* – 2017. – No. 2. – pp. 105-108.

3. Morpho-biochemical status of blood of cows with physiological and complicated course of gestation / V. I. Mikhalev, V. N. Skorikov, G. G. Chusova [et al.] // *Veterinary pharmacological bulletin.* – 2024. – № 1(26). – Pp. 76-87. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2024.1.76.

4. Mikhalev, V. I. The condition of newborn adolescents and maternal cows in the environmental protection system / V. I. Mikhalev, V. N. Skorikov // *Scientific research dedication of the World Health Organization.* – 2024. – Vol. 60, No. 2. – Pp. 42-46. – DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-2-42-46.

5. The metabolic status of cows with delayed intrauterine development of the embryo and fetus / A. G. Nezhdanov, V. I. Mikhalev, G. G. Chusova [et al.] // *Agricultural biology.* – 2016. – Vol. 51, No. 2. – pp. 230-237. – DOI 10.15389/agrobiol.2016.2.230rus.

– PUBLISHING HOUSE of HIGHER educational institutions.

6. Dan F., McClure M., Rory R., Wang H., Chai J., Wei H., Lai S., Zhao J. The microbiomes of the vagina and feces are associated with the pregnancy status of meat heifers. *J Anim Sci Biotechnol.* 2019;10: 92. doi: 10.1186/s40104-019-0401-2.

7. Zhukov M.S., Alyokhin Yu.N. Detection of upper respiratory tract bacteria in newborn calves. *Reproduction in domestic ani-*

- mals. 2022; 57 (S1): 97. DOI: 10.1111/rda.14052
8. Filatov A.V. The effectiveness of early use of a probiotic drug in the rearing of calves / A.V. Filatov, S. V. Nikolaev, A. S. Syutkina // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2024. – No. 3. – pp. 155-161. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.3.155.
9. Kim, E.-T.; Lee, S.-J.; Kim, T.-Y.; Lee, H.-G.; Atikur, R.M.; Gu, B.-H.; Kim, D.-H.; Park, B.-Y.; Song, J.-K.; Kim, M.-H. Dynamic changes in the fecal microbial communities of newborn dairy calves as a result of aging and diarrhea. *Animals* 2021, 11, 1113.
10. Gomez, D.; Arroyo, L.; Costa, M.; Viel, L.; Wise, J. Characteristics of the bacterial microflora of feces of healthy dairy calves and calves with diarrhea // *Veterinary medicine. The intern. Medicine*, 2017, 31, 928-939. <https://doi.org/10.1111/jvim.14695>.
11. Cho YI, Yun K.J. Review of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis and treatment. *J Veterinary Sciences*. 2014;15 (1):1-17. <https://doi.org/10.4142/jvs.2014.15.1.1>
12. Chen, H., Liu, Y., Huang, K. et al. The dynamics of the fecal microbiota and its relation to diarrhea and the health of dairy calves. *J Animal Sci Biotechnol*. 2022; 13:132. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00758-4>.
13. Fernandez S., Fraga M., Castells M., Colina R., Zunino P. The effect of the introduction of *Lactobacillus* spp strains. newborn diarrhea, immune parameters, and the number of pathogens in calves that have not yet been weaned. *Useful microbes*. 2020;11 (5):477-88. DOI: 10.3920/BM2019.0167
14. Millett M., Lucke F. M. and Lacroix M. In vitro growth control of selected pathogenic microorganisms using *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* fermented milk products. *Letters'. Adj. Microbiol*. 2007; 44: 314-319. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2006.02060.x
15. Mokoena M.P. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and application against uropathogens: A mini-review. *The molecules*. 2017; 22 (8):1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
16. Slanzon G.S., Raidenhour B.J., Moore D.A., Sisho U.M., Parrish L.M., Trombetta S.S. et al. (2022) Microbiome profiles of newborn dairy calves with varying degrees of severity of gastrointestinal diseases. *PLUS ONE*. 2022;17(1): 0262317. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262317>.

УДК: 579.62

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.20

АНАЛИЗ ОТНОСИТЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ В КИШЕЧНИКЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ С ПОМОЩЬЮ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Сыромятников М.Ю.^{1*} – канд. биол. наук, доц., вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9028-0613); Нестерова Е.Ю.¹ – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-0918-3547); Гладких М.И.¹ – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1173-1565); Михайлов Е.В.² – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5457-1325); Корнеева О.С.¹ – д-р биол. наук, профессор (ORCID 0000-0066-0281-5904)

¹ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»)

* mihan.vrn@mail.ru

Ключевые слова: пробиотические бактерии, кишечник, куры, свиньи, коровы, генетические методы.

Key words: probiotic bacteria, gut, chickens, pigs, cows, genetic methods.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-20036, <https://rscf.ru/project/24-24-20036/>

Поступила: 10.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Пробиотики представляют собой микроорганизмы, которые обладают полезными свойствами, способными оказывать благоприятное воздействие на организм-хозяина. Куры, свиньи и крупнорогатый скот представляют собой самых распространенных сельскохозяйственных животных по всему миру. В связи с этим поддержание микробного баланса кишечника является важной задачей для ветеринарии. Ранее было установлено, что для представителей родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* доказана пробиотическая эффективность, а *Akkermansia* и *Faecalibacterium* рассматриваются как пробиотики нового поколения. Целью работы является сравнительный анализ кишечного микробиома кур, свиней и крупного рогатого скота на наличие и относительное содержание в нем пробиотических микроорганизмов. Первоначально было показано преобладание филумов бактерий Bacteroides, Firmicutes и Actinobacteria в кишечнике всех исследованных сельскохозяйственных животных. Самым распространенным филумом, выделенным из образцов фекалий кур, оказался филум Firmicutes, в кишечном микробиоме коров и свиней доминировал филум Bacteroides. При анализе относительного содержания протеобактерий было установлено, что кишечный микробиом коров представлен бактериями классов Betaproteobacteria и Epsilonproteobacteria, а у свиней практически исключительно классом Epsilonproteobacteria. В пробах, полученных от свиней, поросят и кур, установлено доминирование бактерий рода

Lactobacillus над *Bifidobacterium*. Одновременное наличие пробиотических бактерий нового поколения – *Faecalobacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila* идентифицированы только в образцах фекалий, полученных от коров, при этом относительная численность бактерий *Akkermansia muciniphila* в 50,0 раз превышала число *Faecalobacterium prausnitzii* в образцах. В фекалиях свиней была идентифицирована бактерия *Faecalobacterium prausnitzii*, а в фекалиях кур *Akkermansia muciniphila*. Примечательно, что у поросят возрастом 5-10 суток не было выявлено наличие пробиотиков нового поколения в кишечнике.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Пробиотики представляют собой микроорганизмы, которые обладают уникальными свойствами, способными оказывать благоприятное воздействие на организм хозяина [1]. В результате изучения особенностей жизнедеятельности полезных микроорганизмов кишечного тракта животных и человека было установлено, что некоторые представители родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus* и *Escherichia* обладают пробиотическими свойствами [2]. Самыми распространенными бактериями-пробиотиками принято считать штаммы бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [3]. Они способны влиять на микробное соотношение кишечного тракта, активировать иммунную систему организма и оказывать антагонистическое воздействие на патогенную микрофлору [4].

Совершенствование методов исследования микробиома кишечника позволило выявить и другие штаммы бактерий с пробиотическим потенциалом [5]. Такие микроорганизмы получили название пробиотики нового поколения. К ним относят *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Prevotella copri*, *Parabacteroides goldsteinii* и некоторые другие [6]. Установлено, что новые пробиотические агенты способны оказывать прямое воздействие на биохимические и физиологические показатели организма. Например, регулировать индекс массы тела, влиять на резистентность к инсулину, а также сокращать воспалительные процессы в кишечном тракте [7]. В связи с этим пробиотические препараты активно внедряются в сферы здравоохранения и ветери-

нарии, являясь безопасной альтернативой синтетических фармацевтических препаратов и антибиотиков.

Куры, свиньи и крупный рогатый скот – самые распространенные сельскохозяйственные животные по всему миру [8]. Здоровье поголовья зависит от множества факторов, однако, состояние кишечного микробиома, зачастую становится определяющим. В связи с этим поддержание микробного баланса кишечника является важной задачей для ветеринарии. Так, например, дисбиоз кишечника кур может приводить к инфицированию птицы патогеном *Salmonella enterica* [9]. При этом включение в рацион пробиотических микроорганизмов позволяет сокращать заражение патогенными бактериями, в том числе и сальмонеллой [10]. Известно исследование, в котором доказано влияние кишечной микробиоты свиней разных пород на формирование защитной функции эпителия кишечника [11]. А секретируемая кишечной микрофлорой урсодезоксихолевая кислота способствует сокращению колик у телят, влияя на гомеостаз желудочно-кишечного тракта [12].

В настоящее время отсутствуют литературные данные о сравнительном анализе кишечного микробиома сельскохозяйственных животных (куры, коровы, свиньи) по относительному содержанию как классических пробиотических бактерий, так и пробиотиков нового поколения. В связи с этим целью работы является сравнительный скрининг кишечного микробиома кур, свиней и крупного рогатого скота на наличие и относительное содержание в нем пробиотических микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В качестве объекта исследования выступали 90 образцов свежесобраных фекалий от клинически здоровых коров (n=30), кур (n=30) и свиней (n=30). При исследовании содержимого кишечника коров и свиней использовали микробиоту телят возрастом 3-10 суток (n=10) и коров возрастом 2-2,5 года (n=20), а также поросят возрастом 5-10 суток (n=10) и свиней на откорме возрастом 100-120 суток (n=20).

ДНК из отобранных в стерильных условиях фекалий экстрагировали коммерчески доступным набором Проба-ГС (ДНК-технология, Россия). ПЦР-анализ проводили на приборе «Bio-Rad CFX96» с добавлением красителя SYBR Green. В пробирке объемом 0,2 мл смешивались следующие компоненты: деионизированная вода – 12 мкл; ДНК – 2 мкл; смесь праймеров – 2 мкл; 5X qPCRmix-HS SYBR+LowROX реакционная смесь (Евроген, Россия) – 4 мкл. Был использован следующий температурный цикл: первоначальный прогрев при 95 °C – 2 мин; 38 циклов вида: денатурация при 95 °C в течение 30 сек; отжиг праймеров при 56 °C в течение 30 сек; элонгация цепи при 72 °C в течение 40 сек. Для анализа филумов и классов бактерий использовали праймеры согласно Yun-Wen Yang, 2015 [13]. Для анализа относительного содержания бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* использовали ранее опубликованные праймеры [14,15]. Для исследования относительного содержания *Akkermansia muciniphila* и *Faecalibacterium prausnitzii* использовали самостоятельно разработанные праймеры. При расчете относительного содержания бактерий с помощью параметра $2^{-\Delta C_t}$ проводили нормализацию к гену 16S rRNA в качестве референсного.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Оценка кривых флуоресценции, полученных в результате амплификации образцов со специфичными к филумам бактерий праймерами, позволила произвести анализ биоразнообразия филумов в ки-

шечном тракте сельскохозяйственных животных различных групп (рисунок 1).

Было установлено, что доминирующими филумами бактерий оказались Bacteroides, Firmicutes и Actinobacteria. При этом необходимо отметить, что представители Actinobacteria, в который входят представители рода *Bifidobacterium*, реже других бактерий встречались в данной выборке. Их процентное соотношение во всех исследуемых группах сельскохозяйственных животных варьировала в пределах 1,39-3,45%. Самым распространенным филумом в образцах кала кур оказался Firmicutes (96,48%), что было выше в 2,34 раза и 2,96 раза по сравнению с содержанием этого филума в фекалиях коров и свиней. Известно, что к этому филуму относятся пробиотические бактерии рода *Lactobacillus*. Интересно, что представители филума Bacteroides не были идентифицированы в образцах экскрементов кур. В кишечном микробиоме коров и свиней филум Bacteroides преобладал над Firmicutes. Так, например, содержание Bacteroides в группе свиней составляло 65,40%, а Firmicutes – 32,60%.

Также была проведена оценка обогащенности образцов фекалий, полученных от кур, коров и свиней классами протеобактерий, которые включают в себя множество условно-патогенных бактерий. Установлено, что кишечный микробиом коров был представлен бактериями классов Betaproteobacteria и Epsilonproteobacteria. При этом в образцах фекалий, полученных от свиней, был обнаружен только филум Epsilonproteobacteria и следы Gammaproteobacteria (рисунок 2).

В таблице 1 представлены относительные значения распространенности филумов Deferobacteria, Saccharomycetes, Tenericutes и Verrucomicrobia в образцах фекалий кур, коров и свиней. Установлено, что представители типа Deferobacteria выявлены только в кишечном микробиоме свиней (0,005±0,003%). При этом бактерии филумов Tenericutes и Verrucomicrobia повсеместно распространены во всех исследуемых группах сельскохозяйственных животных, однако, в образцах

кала коров значение относительного содержания Verrucomicrobia было наибольшим в выборке и составило $3,897 \pm 3,892\%$. Класс Saccharomycetes был идентифицирован только в образцах, по-

лученных от коров ($2,733 \pm 2,632\%$) и свиной ($0,076 \pm 0,034\%$). Кишечный микробиом свиной содержал в своем составе представителей всех четырех филумов.

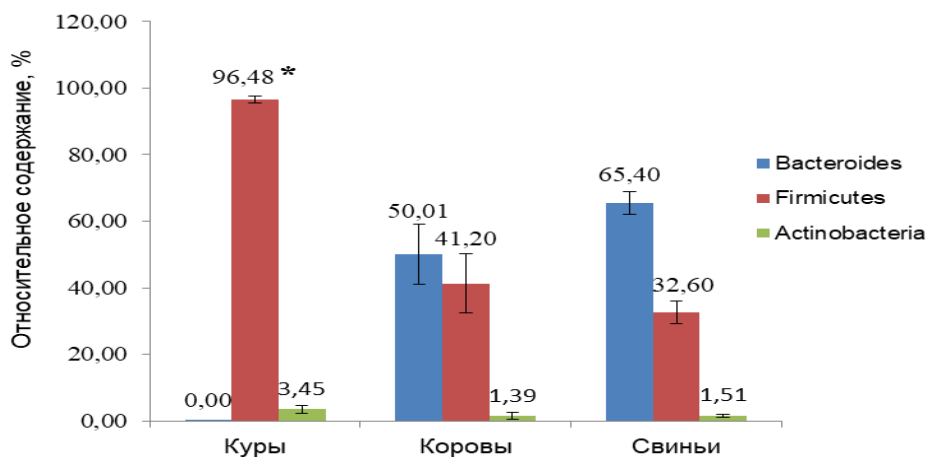


Рисунок 1 – Распространенность филумов в кишечном микробиоме животных различных групп. * различия с группой «Коровы» и «Свины» статистически достоверное ($p < 0,05$).

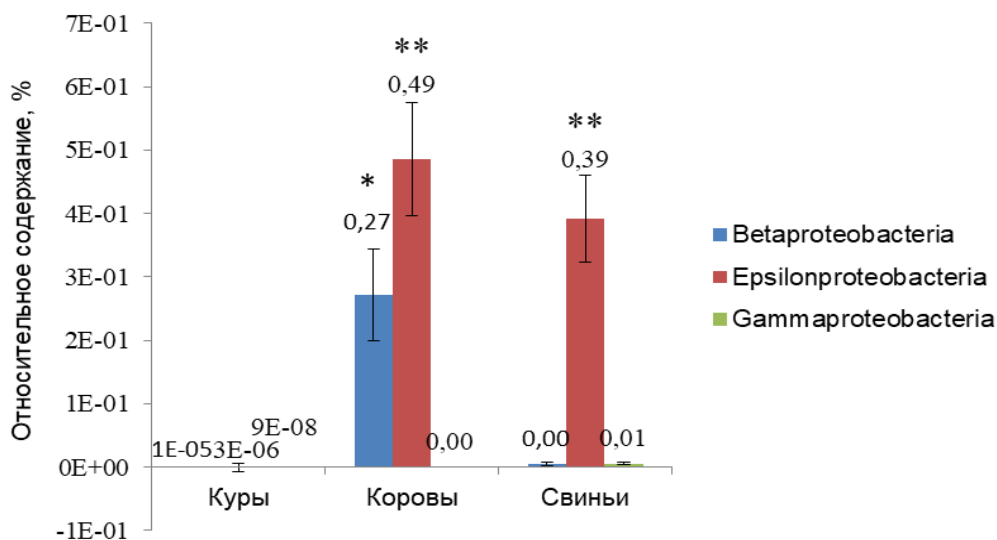


Рисунок 2 – Распространенность классов протеобактерий в кишечном микробиоме сельскохозяйственных животных различных групп. * различия с группой «Куры» статистически достоверное ($p < 0,01$); ** различия с группой «Куры» статистически достоверное ($p < 0,001$).

Таблица 1 – Распространенность филумов бактерий в кишечном микробиоме сельскохозяйственных животных

Типы	Куры	Коровы	Свиньи
Deferobacteria	-	-	0,005±0,003%
Saccharomycetes	-	2,733±2,632%	0,076±0,034%
Tenericutes	0,006±0,002%	0,003±0,002%	0,007±0,003%
Verrucomicrobia	0,001±0,0005%	3,897±3,892%	0,001±0,0004%

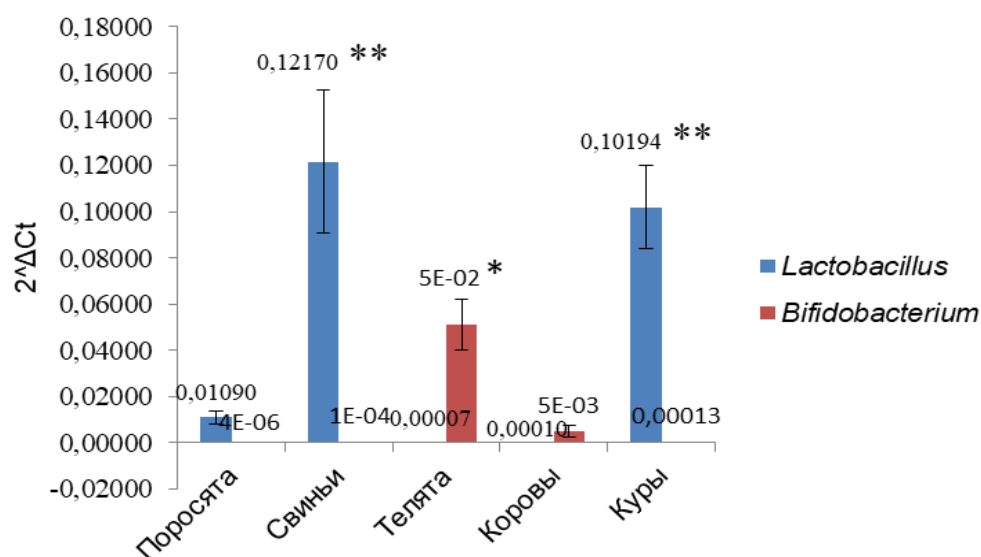


Рисунок 3 – Сравнительная диаграмма содержания бактерий рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* в образцах фекалий животных различных групп. * различия с группой «Поросята», «Свиньи», «Коровы», «Куры» статистически достоверное ($p < 0,01$); ** различия с группой «Поросята», «Телята», «Коровы» статистически достоверное ($p < 0,01$).

В результате анализа кривых флуоресценции и расчета параметра $2^{-\Delta C_t}$ удалось выявить относительную обильность бактерий родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Faecalobacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila* в фекалиях здоровых свиней, кур и коров.

На рисунке 3 представлена сравнительная диаграмма содержания бактерий рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* в образцах фекалий животных различных

групп. В фекалиях от свиней, поросят и кур установлено доминирование бактерий рода *Lactobacillus* над *Bifidobacterium*. При этом наименьшие значения в относительном количестве этих бактерий были характерны для поросят. Так, значения $2^{-\Delta C_t}$ для лактобактерий из кишечника поросят был в 11,2 раз ниже этого показателя у свиней и в 9,6 раз у кур. Примечательно, что кишечный микробиом коров и телят в отличие от свиней, поросят и кур

был обогащен представителями рода *Bifidobacterium*.

В ходе проведенного анализа было установлено, что пробиотические бактерии нового поколения *Faecalobacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila* идентифицированы только в образцах фекалий, полученных от коров (таблица 2). При этом численность бактерий рода *Akkermansia muciniphila* в 50,0 раз превыша-

ло число *Faecalobacterium prausnitzii* в образцах.

В пробах фекалий, полученных от кур, телят и свиней, *Faecalobacterium prausnitzii* не были идентифицированы. В кишечном микробиоме взрослых свиней представители *Faecalobacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila* обнаружены не были.

Таблица 2 – Распространенность *Faecalobacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila* в кишечном микробиоме сельскохозяйственных животных

Группы животных		2 ^{ΔCt}	
		<i>Akkermansia muciniphila</i>	<i>Faecalobacterium prausnitzii</i>
Куры		0,031±0,031	-
Коровы	Телята	0,111±0,058*	-
	Стельные Коровы	0,005±0,004	0,0001±0,0001
Свиньи	Поросята	-	0,0006±0,0004
	Свиньи откорм	-	-

Примечание: * различия с группой «Поросята» и «Свиньи откорм» статистически достоверное ($p < 0,01$).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате сравнительного скрининга кишечного микробиома кур, свиней и коров было установлено превалирование филумов Bacteroides, Firmicutes и Actinobacteria. Самым распространенным филумом в образцах фекалий кур оказался Firmicutes, в кишечном микробиоме коров и свиней доминировал Bacteroides. Анализ параметра 2^{-ΔCt} позволил выявить относительное содержание пробиотических бактерий *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalobacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila*. В фекалиях, полученных от свиней, поросят и кур, установлено доминирование бактерий рода *Lactobacillus* над *Bifidobacterium*. Одновременное

наличие двух бактерий *Faecalobacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila* идентифицировано только в образцах фекалий, полученных от коров, при этом численность бактерий *Akkermansia muciniphila* в 50,0 раз превышало число *Faecalobacterium prausnitzii* в исследуемых образцах. В фекалиях свиней была идентифицирована бактерия *Faecalobacterium prausnitzii*, а в фекалиях кур *Akkermansia muciniphila*. У поросят не было выявлено наличие пробиотических бактерий нового поколения. Таким образом, необходимо учитывать присутствие новых пробиотических агентов в микробиоме кишечника сельскохозяйственных животных для разработки терапий на основе

этих бактерий, а также при изоляции пробиотических бактерий из кишечника с целью создания коммерческих пробиотиков.

ANALYSIS OF THE RELATIVE CONTENT OF PROBIOTIC BACTERIA IN THE GUT OF FARM ANIMALS USING GENETIC METHODS

Syromyatnikov M.Yu.^{1*} – PhD in Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher (ORCID 0000-0001-9028-0613); **Nesterova E.Yu.**¹ – Junior Researcher (ORCID 0000-0003-0918-3547); **Gladikh M.I.**¹ – Junior Researcher (ORCID 0000-0003-1173-1565); **Mikhaylov E.V.**² – PhD in Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0001-5457-1325); **Korneeva O.S.**¹ – PhD in Biological Sciences, Professor (ORCID 0000-0066-0281-5904)

¹ Voronezh State University of Engineering Technology

² All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy

* mihaan.vrn@mail.ru

Financing: The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 24-24-20036, <https://rscf.ru/project/24-24-20036/>

ABSTRACT

Probiotics are microorganisms that have beneficial properties that can have beneficial effects on the host organism. Chickens, pigs, and cattle are the most common farm animals around the world. In this regard, maintaining the microbial balance of the gut is an important task for veterinary medicine. It was previously established that probiotic efficacy has been proven for representatives of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, and *Akkermansia* and *Faecalibacterium* are considered as probiotics of a new generation. The aim of the work is a comparative analysis of the gut microbiome of chickens, pigs and cattle for the presence and relative content of probiotic microorganisms

in it. Initially, the prevalence of phylum Bacteroides, Firmicutes, and Actinobacteria in the faeces of all the farm animals studied was shown. The Firmicutes phylum turned out to be the most widespread phylum isolated from chicken fecal samples, while the Bacteroides phylum dominated the gut microbiome of cows and pigs. When analyzing the relative content of proteobacteria, it was found that the intestinal microbiome of cows is represented by bacteria of the classes Betaproteobacteria and Epsilonproteobacteria, and in pigs almost exclusively by the class Epsilonproteobacteria. In the samples obtained from pigs, piglets and chickens, the dominance of bacteria of the genus *Lactobacillus* over *Bifidobacterium* was established. The simultaneous presence of probiotic bacteria of a new generation, *Faecalobacterium prausnitzii* and *Akkermansia muciniphila*, was identified only in faecal samples obtained from cows, while the relative abundance of bacteria *Akkermansia muciniphila* was 50.0 times higher than the number of *Faecalobacterium prausnitzii* in the samples. The bacterium *Faecalobacterium prausnitzii* was identified in pig faeces, and *Akkermansia muciniphila* was identified in chicken faeces. It is noteworthy that the presence of new generation probiotics in the intestines was not detected in piglets aged 5-10 days.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Gupta, V. Probiotics / V. Gupta, R. Garg // Indian Journal of Medical Microbiology. – 2009. – Vol. 27, № 3. – P. 202-209. – DOI 10.4103/0255-0857.53201.
2. Fijan, S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature / S. Fijan // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2014. – Vol. 11, № 5. – P. 4745-5767. – DOI 10.3390/ijerph110504745.
3. Ouwehand, A. C. Probiotic approach to prevent antibiotic resistance / A. C. Ouwehand, S. Forssten, A. A. Hibberd, A. Lyra, B. Stahl // Annals of Medicine. – 2016. – Vol. 48, № 4. – P. 246-55. – DOI 10.3109/07853890.2016.1161232.
4. Ogata, T. Effect of *Bifidobacterium longum* BB536 administration on the intesti-

- nal environment, defecation frequency and fecal characteristics of human volunteers / T. Ogata, T. Nakamura, K. Anjitsu, T. Yaeshima, S. Takahashi, Y. Fukuwatari, N. Ishibashi, H. Hayasawa, T. Fujisawa, H. Iino // *Bioscience and Microflora*. – 1997. – Vol. 16, № 2. – P. 53-58.
5. Tlaskalova-Hogenova, H. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases / H. Tlaskalova-Hogenova, R. Stepankova, H. Kozakova, T. Hudcovic, L. Vannucci, L. Tuckova, P. Rossmann, T. Hrnecir, M. Kverka, Z. Zakostelska, K. Klimesova, J. Pribylova, J. Bartova, D. Sanchez, P. Fundova, D. Borovska, D. Srutkova, Z. Zidek, M. Schwarzer, P. Drastich, D. P. Funda // *Cellular and Molecular Immunology*. – 2011. – Vol. 8, № 2. – P. 110-120. – DOI 10.1038/cmi.2010.67.
6. Chang, C. J. Next generation probiotics in disease amelioration / C. J. Chang, T. L. Lin, Y. L. Tsai, T. R. Wu, W. F. Lai, C. C. Lu, H. C. Lai // *Journal of Food and Drug Analysis*. – 2019. – Vol. 27, № 3. – P. 615-622. – DOI 10.1016/j.jfda.2018.12.011.
7. Duncan, S. H. Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov. / S. H. Duncan, G. L. Hold, H. J. Harmsen, C. S. Stewart, H. J. Flint // *The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2002. – Vol. 52. – P. 2141-2146. – DOI 10.1099/00207713-52-6-2141.
8. Wang, X. M. Plasmids of diverse inc groups disseminate the fosfomycin resistance gene *fosa3* among *Escherichia coli* isolates from pigs, chickens, and dairy cows in northeast China / X. M. Wang, Z. Dong, S. Schwarz, Y. Zhu, X. Hua, Y. Zhang, S. Liu, W. J. Zhang // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2017. – Vol. 61, № 9. – P. e00859-17. – DOI 10.1128/AAC.00859-17.
9. Berchieri, A. Jr. Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background / A. Jr. Berchieri, C. K. Murphy, K. Marston, P. A. Barrow // *Avian Pathology*. – 2001. – Vol. 30. – P. 221-231. – DOI 10.1080/03079450120054631.
10. Khan, S. The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and probiotics to enhance gut health and food safety / S. Khan, R. J. Moore, D. Stanley, K. K. Chousalkar // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2020. – Vol. 86, № 13. – P. e00600-20. – DOI 10.1128/AEM.00600-20.
11. Hu, J. Gut microbiota-derived 3-phenylpropionic acid promotes intestinal epithelial barrier function via AhR signaling / J. Hu, J. Chen, X. Xu, Q. Hou, J. Ren, X. Yan // *Microbiome*. – 2023. – Vol. 11, № 1. – 102 p. – DOI 10.1186/s40168-023-01551-9.
12. He, Z. Gut microbiota-derived ursodeoxycholic acid from neonatal dairy calves improves intestinal homeostasis and colitis to attenuate extended-spectrum β -lactamase-producing enteroaggregative *Escherichia coli* infection / Z. He, Y. Ma, S. Yang, S. Zhang, S. Liu, J. Xiao, Y. Wang, W. Wang, H. Yang, S. Li, Z. Cao // *Microbiome*. – 2022. – Vol. 10, № 1. – 79 p. – DOI 10.1186/s40168-022-01269-0.
13. Yang, Y. W. Use of 16S rRNA gene-targeted group-specific primers for real-time PCR analysis of predominant bacteria in mouse feces / Y. W. Yang, M. K. Chen, B. Y. Yang, X. J. Huang, X. R. Zhang, L. Q. He, J. Zhang, Z. C. Hua // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2015. – Vol. 81, № 19. – P. 6749-56. DOI 10.1128/AEM.01906-15.
14. Wise, M. G. Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetable-based diets / M. G. Wise, G. R. Siragusa // *Journal of Applied Microbiology*. – 2007. – Vol. 102, № 4. – P. 1138-49. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03153.x.
15. Steed, H. Bacterial translocation in cirrhosis is not caused by an abnormal small bowel gut microbiota / H. Steed, G. T. Macfarlane, K. L. Blackett, S. Macfarlane,

M. H. Miller, B. Bahrami, J. F. Dillon // FEMS Immunology and Medical Microbiology. – 2011. – Vol. 63, № 3. – P. 346-54. DOI 10.1111/j.1574-695X.2011.00857.x.

REFERENCES

1. Gupta, V. Probiotics / V. Gupta, R. Garg // Indian Journal of Medical Microbiology. 2009;27(3):202-209. – DOI 10.4103/0255-0857.53201.
2. Fijan, S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature / S. Fijan // International Journal of Environmental Research and Public Health. 2014;11(5):4745-5767. – DOI 10.3390/ijerph110504745.
3. Ouwehand, A. C. Probiotic approach to prevent antibiotic resistance / A. C. Ouwehand, S. Forssten, A. A. Hibberd, A. Lyra, B. Stahl // Annals of Medicine. 2016;48(4):246-55. – DOI 10.3109/07853890.2016.1161232.
4. Ogata, T. Effect of Bifidobacterium longum BB536 administration on the intestinal environment, defecation frequency and fecal characteristics of human volunteers / T. Ogata, T. Nakamura, K. Anjitsu, T. Yaeshima, S. Takahashi, Y. Fukuwatari, N. Ishibashi, H. Hayasawa, T. Fujisawa, H. Iino // Bioscience and Microflora. 1997;16(2):53-58.
5. Tlaskalova-Hogenova, H. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases / H. Tlaskalova-Hogenova, R. Stepankova, H. Kozakova, T. Hudcovic, L. Vannucci, L. Tuckova, P. Rossmann, T. Hrnčíř, M. Kverka, Z. Zakostelská, K. Klimesova, J. Přibylková, J. Bartová, D. Sanchez, P. Fundová, D. Borovská, D. Srutková, Z. Zidek, M. Schwarzer, P. Drastich, D. P. Funda // Cellular and Molecular Immunology. 2011;8(2):110-120. – DOI 10.1038/cmi.2010.67.
6. Chang, C. J. Next generation probiotics in disease amelioration / C. J. Chang, T. L. Lin, Y. L. Tsai, T. R. Wu, W. F. Lai, C. C. Lu, H. C. Lai // Journal of Food and Drug Analysis. 2019;27(3):615-622. – DOI 10.1016/j.jfda.2018.12.011.
7. Duncan, S. H. Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov. / S. H. Duncan, G. L. Hold, H. J. Harmsen, C. S. Stewart, H. J. Flint // The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2002;52:2141-2146. – DOI 10.1099/00207713-52-6-2141.
8. Wang, X. M. Plasmids of diverse inc groups disseminate the fosfomycin resistance gene *fosa3* among *Escherichia coli* isolates from pigs, chickens, and dairy cows in northeast China / X. M. Wang, Z. Dong, S. Schwarz, Y. Zhu, X. Hua, Y. Zhang, S. Liu, W. J. Zhang // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2017;61(9):e00859-17. – DOI 10.1128/AAC.00859-17.
9. Berchieri, A. Jr. Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background / A. Jr. Berchieri, C. K. Murphy, K. Marston, P. A. Barrow // Avian Pathology. 2001;30:221-231. – DOI 10.1080/03079450120054631.
10. Khan, S. The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and probiotics to enhance gut health and food safety / S. Khan, R. J. Moore, D. Stanley, K. K. Chousalkar // Applied and Environmental Microbiology. 2020;86(13):e00600-20. – DOI 10.1128/AEM.00600-20.
11. Hu, J. Gut microbiota-derived 3-phenylpropionic acid promotes intestinal epithelial barrier function via AhR signaling / J. Hu, J. Chen, X. Xu, Q. Hou, J. Ren, X. Yan // Microbiome. 2023;11(1):102. – DOI 10.1186/s40168-023-01551-9.
12. He, Z. Gut microbiota-derived ursodeoxycholic acid from neonatal dairy calves improves intestinal homeostasis and colitis to attenuate extended-spectrum β -lactamase-producing enteroaggregative *Escherichia coli* infection / Z. He, Y. Ma, S. Yang, S. Zhang, S. Liu, J. Xiao, Y. Wang, W. Wang, H. Yang, S. Li, Z. Cao // Microbiome. 2022;10(1):79. – DOI 10.1186/s40168-022-01269-0.
13. Yang, Y. W. Use of 16S rRNA gene-

targeted group-specific primers for real-time PCR analysis of predominant bacteria in mouse feces / Y. W. Yang, M. K. Chen, B. Y. Yang, X. J. Huang, X. R. Zhang, L. Q. He, J. Zhang, Z. C. Hua // *Applied and Environmental Microbiology*. 2015;81(19):6749-56. – DOI 10.1128/AEM.01906-15.

14. Wise, M. G. Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetable-based diets / M. G. Wise, G. R.

Siragusa // *Journal of Applied Microbiology*. 2007;102(4):1138-49. – DOI 10.1111/j.1365-2672.2006.03153.x.

15. Steed, H. Bacterial translocation in cirrhosis is not caused by an abnormal small bowel gut microbiota / H. Steed, G. T. Macfarlane, K. L. Blackett, S. Macfarlane, M. H. Miller, B. Bahrami, J. F. Dillon // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2011;63(3):346-54. – DOI 10.1111/j.1574-695X.2011.00857.x.

УДК: 639.3.09

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.30

ИЗЫСКАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ПЦР-РВ ИНДИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ВИРУСНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ РЫБ

Громова Е.А.* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0416-6193); Миргазов Д.А. – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-4709-314X); Додонова Е.А. – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-6919-4064); Осянин К.А. – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-2763-8605); Горбунова М.Е. – канд. биол. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0707-2117); Макаева А.Р. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0891-9826)

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

*elizaveta-real@mail.ru

Ключевые слова: вирусная геморрагическая септицемия, ОТ-ПЦР, чувствительность, специфичность, генетические маркеры, диагностика.

Key words: viral hemorrhagic septicemia, RT-PCR, sensitivity, specificity, genetic markers, diagnosis.

Поступила: 11.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025

РЕФЕРАТ



Вирусная геморрагическая септицемия является одной из наиболее опасных болезней рыб, наносящих существенный урон экономическому развитию аквакультуры. В Российской Федерации диагностические мероприятия по выявлению данного возбудителя, как правило, базируются на серологических подходах. Однако, наиболее быстрыми и точными являются молекулярно-генетические методы диагностики, в основе которых лежит полимеразная цепная реакция. Целью данной работы явилась разработка комбинации праймеров и зонда, пригодной для специфической ПЦР-индикации вируса геморрагической септицемии в режиме реального времени. На первом этапе работы был осуществлен биоинформационный анализ доступных, на сегодняшний день, нуклеотидных последовательностей геномов возбудителя вирусной геморрагической септицемии. Проанализировав последовательности данного вируса, в пределах гена N, кодирующего нуклеопротеин, определен маркерный локус размером 180 п.о. В пределах данного локуса разработаны праймеры и зонд, пригодные для выявления изолятов вирусной геморрагической септицемии в формате полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. В результате серии экспериментов, проведенных на кДНК, выделенных из вирусных культур VHSV ЧФ 1.2, VHSV 22-ARM, IHNV и IPN, была определена программа амплификации и состав реакционной смеси. Установлено, что разработанные праймеры обладают 100 % специфичностью, а чувствительность может достигать 12 копий вирусных частиц на микролитр. Таким образом, подобранные в рамках данной работы нуклеотидные маркеры и сконструированные на их основе праймеры и зонд обладают всеми необходимыми характеристиками для использования их в качестве основы тест-системы, позволяющей проводить быструю ПЦР-индикацию вируса для выявления и идентификации возбудителя вирусной геморрагической септицемии.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Вирусная геморрагическая септицемия (VHS) – это высоко контагиозная болезнь дикой и аквакультурной рыбы, которой подвержены особи всех возрастов отрядов лососеобразных, камбалообразных и сельдеобразных. Клинические проявления заболевания выражаются в виде интенсивных кровоизлияний в кожных покровах, мышечной ткани, глазных яблоках, почках и печени зараженной рыбы, часто с летальным исходом (до 90 %) [1]. Высокая смертность преимущественно характерна для мальков и молоди видов *Oncorhynchus mykiss*, *Scophthalmus maximus* и *Paralichthys olivaceus* [2].

Возбудителем болезни является вирус геморрагической септицемии (VHSV), который относится к семейству *Rhabdoviridae*. Геном VHSV представлен несегментированной одноцепочечной РНК с отрицательной полярностью длиной около 11 килобаз, которая последовательно детерминирует шесть белков 3'-N (нуклеопротеин) - Р (связанный с полимеразой фосфопротеин) - М (матриксный белок) - G (гликопротеин) - NV (неструктурный белок) - L (РНК-зависимая полимераз) -5'. Наиболее активно транскрибируемым геном из вышеперечисленных является ген N [3].

На основе филогенетического анализа последовательностей генов G, N и NV выделяют четыре генотипа VHSV, каждый из которых ассоциирован с распространением данного вируса в конкретном географическом регионе [1]. Генотип I представлен европейскими пресноводными изолятами, а также изолятами из северных морей. Генотип II включает в себя изоляты, выделенные от зараженных рыб в Балтийском море. Изоляты, относящиеся к III генотипу, встречаются в Северном море, а также в проливах Скагеррак и Каттегат. К IV генотипу относятся североамериканские и азиатские изоляты [2]. Отметим, что генотипы вируса VHSV отличаются по своей вирулентной способности у различных видов рыб. В частности, европейские пресноводные штаммы могут стать причиной серьезного за-

болевания у радужной форели, в то время как североамериканские или североамериканские морские изоляты обычно не представляют серьезной опасности для этого вида или вообще не вызывают заболевания [4].

По классификации Международного эпизоотического бюро (МЭБ) VHS относится к категории особо опасных болезней рыб, требующей обязательной декларации в случае его обнаружения [1]. Согласно данным МЭБ наиболее неблагоприятным по данному заболеванию являются страны европейские и азиатские страны. Что касается Российской Федерации, циркуляция вируса VHSV зарегистрировано в рыбных хозяйствах Республики Карелия [5].

Вирусные болезни рыб представляет серьезную проблему для рыбоводческих хозяйств с точки зрения экономики и социальной сферы, а также оказывает негативное воздействие на природные ресурсы и способствует исчезновению редких видов. Поэтому необходимость разработки и совершенствования методологических подходов для быстрой и точной индикации VHSV не вызывает сомнений.

В Российской Федерации лабораторная диагностика VHS проводится, как правило, серологическими методами путем исследования сывороток крови зараженных рыб (ИФА, НРИФ) [5]. Для оперативного и точного обнаружения и идентификации патогенов, вызывающих инфекционные заболевания, наиболее эффективным является метод ПЦР и его модификации. Однако, на сегодняшний день, на отечественном рынке отсутствуют ПЦР тест-системы, нацеленные на индикацию VHSV. Поэтому целью данной работы явилась разработка комбинации праймеров и зонда, пригодная для специфической ПЦР-индикации вируса геморрагической септицемии в режиме реального времени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В исследовании использовали инaktivированные вирусные культуры штаммов VHSV ЧФ 1.2, VHSV 22-ARM, IHNV

и IPN (ФКП «Ставропольская биофабрика»). Для выделения РНК был использован комплект реагентов «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия). Обратную транскрипцию осуществляли с помощью набора «Реверта-Л» («АмплиСенс», Россия). Все манипуляции с нуклеиновыми кислотами выполнялись в соответствии с протоколом производителя. Биоинформационный анализ проводили на основе представленных в базе GenBank нуклеотидных последовательностей геномов вируса VHSV. Подбор маркерных локусов и дизайн олигонуклеотидных затравок, пригодных для индикации VHSV молекулярными методами, выполняли с помощью программ «Vector NTI 9.1.0» и «BLASTn» согласно общепринятым методикам [6-8]. Множественное выравнивание проводили с помощью программы «Clustal Omega». Разработанную комбинацию праймеров и зонда синтезировали в ЗАО «Евроген» (Москва). Постановку ПЦР-РВ проводили с использованием набора реагентов ЗАО «Синтол» (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Вирусная геморрагическая септицемия – это опасная вирусная болезнь рыб, часто лососевых, которая наносит значительный экономический ущерб аквакультуре, ввиду высокой смертности среди молоди. Для мониторинга и выявления возбудителя VHS, а также минимизации риска его распространения важное значение имеет проведение быстрой и точной диагностики, используя самые передовые методические подходы. В мировой практике в качестве надежного инструмента для индикации и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний водных и наземных животных все чаще применяется метод ПЦР-РВ. Данный метод характеризуется высокой степенью специфичности и чувствительности, что позволяет обнаруживать даже единичные копии инфекционного агента в исследуемом образце [5].

Так, на сегодняшний день иностранными учеными разработаны различные способы обнаружения вируса VHS методом ПЦР-РВ, в том числе позволяющие

проводить количественный анализ вирусных частиц в исследуемом материале и генотипировать новые изоляты VHSV [2, 3, 9, 10]

Единичные работы проводятся на территории РФ, в частности, предложен подход для диагностики вируса геморрагической септицемии у лососевых рыб методом гнездовой ОТ-ПЦР [5]. Однако, в большинстве случаев диагностические подходы, разработанные российскими учеными, базируются на использовании классической ПЦР с последующей электрофоретической детекцией и не находят широкого применения на практике [11, 12].

Действительно, до 2022 года на отечественном рынке были представлены исключительно импортные ПЦР-диагностикумы для выявления вирусных заболеваний рыб, в том числе и VHS. Из-за наложенных санкционных ограничений данные тест-наборы более не поставляются, что создает необходимость разработки собственных молекулярно-генетических подходов к диагностике вирусных болезней рыб. В рамках настоящей работы была исследована возможность создания способа индикации вируса VHS с применением ПЦР-РВ.

На сегодняшний день в базе данных GenBank представлена информация о 1932 полногеномных нуклеотидных последовательностях вируса VHSV (январь 2025 г.). Данные последовательности были загружены с помощью онлайн ресурса «NCBI Virus» (www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus) и использованы нами для дальнейшего биоинформационного анализа. Для подбора маркерных локусов, пригодных для индикации VHSV методами ПЦР, был выбран ген N, поскольку он является наиболее активно транскрибируемым в геноме данного вируса и находит активное применение при генотипировании [2]. Анализ вариативности нуклеотидных последовательностей гена N различных штаммов VHSV производился относительно их геномов, депонированных в базе данных GenBank под следующими номерами: FN665788.1,

AB672614.1, KC778774.1, AB839745.1, MK829392.1, MK829393.1, MK829395.1, MK829401.1, MK829408.1, MK829410.1, MK829411.1, MK829412.1, MK829413.1, MK829675.1, MK829677.1, MK829678.1, MK829679.1, MK829680.1, MK829681.1, MK829682.1, MK829683.1, MK829684.1, MK829685.1, MK829686.1, MK829706.1, MN038325.1, MN038327.1, MN038329.1, MN038330.1, MN038331.1, MN038337.1, MN038338.1, MN038339.1, MN038340.1, MN038341.1, MN038342.1, MN038343.1, MN038344.1, MN856666.1, MT162443.1, MT162444.1, MT162445.1, MT162446.1, MT162447.1, MT162448.1, MT162449.1, MT162450.1, MT162451.1, MW507000.1, MT162443.1.

Проведенное множественное выравнивание позволило определить маркерный locus размером 180 п.о. локализованный в области от 343 до 522 нуклеотидов геномов VHSV (относительно последовательностей MN038344.1, MN038339.1, MN038337.1, MK829412.1, MK829410.1, MK829395.1, MW507000.1, KC778774.1, MT162443.1, MT162449.1), характеризующийся наименьшим количеством единичных полиформизмов.

Далее в пределах данного локуса были сконструированы праймеры и флюоресцирующий зонд, обладающие оптимальными для проведения ПЦР-РВ параметрами, а именно процентным содержанием GC, температурой плавления (T_m) и длиной праймеров (рисунок 1).

	Правый праймер	Зонд	Обратный праймер
MK829411.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MT162444.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK829413.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MN038340.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MN038337.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
NC_000855.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
KC778774.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MT162449.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK829395.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MT162443.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
FN665788.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK792283.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK829706.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MT162439.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK829398.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MT162440.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
293414.2	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MT162441.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
AB839747.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK829415.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
AB839748.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
F1460591.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK829405.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK829402.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
MK829400.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		
AB839745.1	CCGAGCTGTACAGCGCTTCCCGTCTCTCTCTATCTCCAGGGGAACACAGAGGAGACTAGAAACAAGTGCAGGCTCCACAGCATGGGCTCAAGGTACACAGGCGAGTCAGGGCCACAGCATCGAGGCGGAATCATGATCCATGAGAGAACTGGCCCTACTG		

Рисунок 1 – Сравнение нуклеотидных последовательностей маркерного локуса гена *N* различных штаммов VHSV.

В качестве флуорофора и гасителя была выбрана комбинация (ROX) – (BNQ2). Специфичность разработанных праймеров была исследована с помощью онлайн утилиты BLASTn. Установлено, что разработанные праймеры и зонд дают 100 % гомологией к большинству депонированных в базе данных GenBank нуклеотидным последовательностям гена *N* вируса VHSV.

После синтеза комбинации олигонуклеотидов была проведена серия экспериментов с использованием кДНК вирусных культур штаммов VHSV ЧФ 1.2 и VHSV 22-ARM, целью которых явились разработка и оптимизация протокола ПЦР-РВ

индикации вируса VHSV.

Анализ полученных экспериментальных данных позволил определить рабочую программу для проведения ПЦР-РВ: начальная денатурация ДНК при 95 °C в течение 5 мин, далее 5 циклов: денатурация при температуре 95 °C – 10 с, отжиг олигонуклеотидов: при 56 °C – 30 с, элонгация: при 72 °C – 25 с; далее 39 циклов: денатурация при температуре 95 °C – 10 с, отжиг олигонуклеотидов: при 56 °C – 30 с (детекция по каналу ROX), элонгация: при 72 °C – 25 с. Максимальная величина порогового цикла (C_t), при котором результат реакции считается положительным – $C_t < 31$. Также был оптимизи-

рован состав реакционной ПЦР-РВ смеси, а именно подобрана концентрация праймеров и зонда. Для выявления наилучшего соотношения олигонуклеотидов в реакционной смеси были рассмотрены концентрации праймеров в диапазоне от 0,15 мкМ до 1 мкМ. В ходе проведенного анализа было показано, что повышение концентрации праймеров в реакционной смеси не оказывает существенного влияния на результативность ПЦР-индикации целевого вируса. В дальнейших исследованиях в рабочей реакционной ПЦР-РВ смеси были использованы праймеры в

концентрации 0,4 мкМ каждого.

Также был проведен анализ чувствительности разработанной праймерной ПЦР-РВ системы. Предел обнаружения вирусных частиц в исследуемом материале определяли путем серии десятикратных разведений кДНК штамма VHSV 22-ARM из начальной концентрации 132 нг/мкл, что соответствует $1,12 \times 10^{10}$ вирусным частицам на один микролитр (в.ч./мкл), и до $1,32 \times 10^{-9}$ нг/мкл равной 1 в.ч./мкл. ПЦР-РВ проводили в трех повторностях. Результаты проведенного эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Предел обнаружения VHSV разработанной праймерной ПЦР-РВ системой

Концентрация образца, нг/мкл	Значение Ct			Среднее значение Ct $M \pm SD$	Результат
132	9,61	9,67	9,52	9,6 $\pm$ 0,075	+
13,2	9,99	10,03	10,05	10,02 $\pm$ 003	+
1,32	11,2	11,32	11,41	11,31 $\pm$ 0,105	+
$1,32 \times 10^{-1}$	14,58	14,32	14,79	14,56 $\pm$ 0,235	+
$1,32 \times 10^{-2}$	15,02	15,32	15,12	15,15 $\pm$ 0,152	+
$13,2 \times 10^{-3}$	16,59	17,01	16,42	16,67 $\pm$ 0,303	+
$13,2 \times 10^{-4}$	18,09	17,87	18,02	17,99 $\pm$ 0,112	+
$13,2 \times 10^{-5}$	20,99	21,24	21,04	21,09 $\pm$ 0,132	+
$13,2 \times 10^{-6}$	25,02	25,65	25,44	25,37 $\pm$ 0,32	+
$13,2 \times 10^{-7}$	27,02	27,34	27,19	27,18 $\pm$ 0,16	+
$13,2 \times 10^{-8}$	32,04	30,87	29,78	30,89 $\pm$ 1,13	$\pm$
$13,2 \times 10^{-9}$	NV	NV	NV	-	-
Отрицательный контроль	NV	NV	NV	-	-

Как видно из таблицы 1, минимальная концентрация VHSV в образце, при которой наблюдается положительная амплификация ($C_t < 31$) для всех трех повторностей, составляет $13,2 \times 10^{-9}$ нг/мкл, что соответствует 112 копиям в.ч./мкл. Однако отметим, что в двух из трех повторностях образца с концентрацией $13,2 \times 10^{-8}$ нг/мкл, также наблюдалась флуоресценция по каналу ROX. Таким образом, заключили, что чувствительность разработанной комбинации праймеров и зонда может достигать 12 копий в.ч./мкл.

Для апробации и оценки видоспецифичности разработанной праймерной системы использовали разнообразные вирусные культуры, включающие в себя как возбудителей вирусной геморрагической септицемии (штаммы VHSV ЧФ 1.2 и VHSV 22-ARM), так и других болезней рыб. В частности, использованы штаммы вирусов IHNV (инфекционный некроз гемопоэтической ткани) и IPN (инфекционный некроз поджелудочной железы).

При амплификации кДНК штаммов VHSV ЧФ 1.2 и VHSV 22-ARM с разработанными праймерами и зондом был получен ожидаемый результат — рост сигнала флуоресценции по каналу ROX. При проведении ПЦР-РВ с кДНК вирусов IHNV и IPN ни одного ложноположительного результата зафиксировано не было, что служит подтверждением высокой специфичности разработанного способа индикации ВГС методом ПЦР-РВ.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В рамках настоящей работы разработана праймерная система ПЦР-РВ индикации опасной болезни рыб — вирусной геморрагической септицемии. Сконструированы специфические праймеры и Taq-Man-зонд, мишенью для которых является ген N вируса VHSV, детерминирующий один из основных факторов вирулентности данного вируса. В исследованиях проведенных *in silico* показано, что разработанные олигонуклеотиды комплементарны к искомым последовательностям данного гена большинства депонированных в базе данных GenBank гено-

мов VHSV. Экспериментально было установлено, что специфичность разработанных олигонуклеотидов составила 100 %, а чувствительность может достигать 12 копий в.ч./мкл. Также определены оптимальные условия для проведения ПЦР-РВ и состав реакционной смеси. Таким образом, можно заключить, что сконструированная комбинация олигонуклеотидных затравок обладают всеми необходимыми параметрами для использования их в качестве основы для построения ПЦР-РВ тест-системы, нацеленной на индикацию вируса VHSV. Такой диагностикум позволит быстро и высокоспецифично выявлять VHSV как в патологическом материале, так и в крови зараженных рыб, в ходе мониторинга и диагностических мероприятий вирусных болезней рыб.

AN INVESTIGATION OF GENETIC MARKERS FOR PCR-RT INDICATION OF THE VIRAL HEMORRHAGIC SEPTICEMIA CAUSATIVE AGENT

Gromova E.A.* – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-0416-6193); Mirgazov D.A. – Junior Researcher (ORCID 0000-0002-4709-314X); Dodonova E.A. – Junior Researcher (ORCID 0000-0002-6919-4064); Osyannin K.A. – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0003-2763-8605); Gorbunova M.E. – Candidate of Biological Sciences, Researcher (ORCID 0000-0002-0707-2117); Makaeva A.R. – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-0891-9826)

Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety"

*elizaveta-real@mail.ru

ABSTRACT

Viral hemorrhagic septicemia is one of the most dangerous fish diseases, causing significant damage to the economic development of aquaculture. In the Russian Federation, diagnostic measures to identify this pathogen are usually based on serological approaches. However, the fastest and the

most accurate methods are molecular genetic diagnostic methods based on the polymerase chain reaction. The aim of this work was to develop a combination of primers and probe suitable for specific PCR indication of hemorrhagic septicemia virus in real time. At the first stage of the work, a bioinformatic analysis of the currently available nucleotide sequences of the genomes of the viral hemorrhagic septicemia causative agent was carried out. After analyzing the sequences of this virus, a marker locus of 180 bp was determined inside of the N gene encoding the nucleoprotein. Inside of this locus, primers and a probe suitable for detecting isolates of viral hemorrhagic septicemia in the real time polymerase chain reaction were developed. As a result of a series of experiments conducted on cDNAs isolated from VHSV CF 1.2 and VHSV 22-ARM virus cultures, the amplification program and the composition of the reaction mixture were determined. It has been established that the developed primers have 100% specificity, and sensitivity can reach 12 copies of virus particles per microliter. Thus, the nucleotide markers selected as part of that work and the primers and probe constructed on their basis have all the characteristics necessary for their use as the basis of a test system that allows for rapid PCR indication of the virus to detect and identify the causative agent of viral hemorrhagic septicemia.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Yusuff S., Kurath G., Kim M.S., Tesfaye T.M., Li J., McKenney D.G., Vakharia V.N. The glycoprotein, non-virion protein, and polymerase of viral hemorrhagic septicemia virus are not determinants of host-specific virulence in rainbow trout. *Virol J.* 2019; 16 (1):31. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1139-3>
2. Baillon L., Mérour E., Cabon J., Louboutin L., Vigouroux E, Alencar ALF, Cuenca A, Blanchard Y, Olesen NJ, Panzarin V, Morin T, Brémont M, Biacchesi S. The Viral Hemorrhagic Septicemia Virus (VHSV) Markers of Virulence in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Front Microbiol.* 2020; 11:574231. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.574231>.
3. Kim H.J., Cuenca A., Olesen N. J Validation of a novel one-step reverse transcription polymerase chain reaction method for detecting viral haemorrhagic septicaemia virus. *Aquaculture.* 2018; 492:170-183. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.047>.
4. Ito T., Kurita J., Mori K., Olesen N.J. Virulence of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) genotype III in rainbow trout. *Vet Res.*; 47:4. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0303-z>
5. Пыльнов В. А., Бурлаченко И. В., Бычкова Л. И. Применение гнездового варианта ПЦР (ОТ-ПЦР) для диагностики вируса геморрагической септицемии у лососевых рыб. Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры: Сборник научных трудов Филиала по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»). 2023; 94:122-129.
6. Анисимова Е.А., Додонова Е.А., Миргазов Д.А., Фахрутдинов Н.А., Елизарова И.А., Панкова Е.В., Осянин К.А. Подбор оптимальных условий постановки ПЦР для идентификации возбудителя бруцеллеза собак. Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2023; 12(230):55-59. <https://doi.org/10.53083/1996-4277-2023-230-12-55-59>.
7. Громова Е.А., Миргазов Д.А., Додонова Е.А., Елизарова И.А., Горбунова М.Е., Осянин К.А. Разработка мультиплексной ПЦР-РВ тест-системы для выявления возбудителя бруцеллеза. Ветеринарный врач. 2024; 3:34-40. https://doi.org/10.33632/1998-698X_2024_3_34.
8. Громова Е.А., Осянин К.А., Додонова Е.А., Горбунова М.Е., Хаммадов Н.И., Макаева А.Р. Генетические маркеры для ПЦР-индикации вируса инфекционного некроза гемопоэтической ткани лососевых рыб. Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2024; 5:88-94.
9. Chico V., Gomez N., Estepa A., Perez L.. Rapid detection and quantitation of viral hemorrhagic septicemia virus in experimentally challenged rainbow trout by real-time

RT-PCR. *J Virol Methods*. 2006; 132(1-2):154-9. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.10.005>

10. Warg J.V, Clement T., Cornwell E.R, Cruz A., Getchell R.G, Giray C., Goodwin A.E, Groocock G.H., Faisal M., Kim R., Merry G.E., Phelps N.B., Reising M.M., Standish I., Zhang Y., Toohey-Kurth K. Detection and surveillance of viral hemorrhagic septicemia virus using real-time RT-PCR. II. Diagnostic evaluation of two protocols. *Dis Aquat Organ*. 2014; 111(1):15-22. <https://doi.org/10.3354/dao02758>

11. Тарасова А. С., Перчун А. В., Мельников В. П. Применение полимеразной цепной реакции для выявления возбудителей некоторых особо опасных вирусных болезней рыб. *Ветеринария сегодня*. 2020; 1(32):11-16. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-1-32-11-16>

12. Перчун А. В., Воробьев В. В., Мельников В. П. Обнаружение особо опасных вирусных болезней рыб семейства лососёвых (*Salmo salar*) с применением полимеразной цепной реакции. *Рыбное хозяйство*. 2022; 5:88-93. <https://doi.org/10.37663/0131-6184-2022-5-88-93>

REFERENCES

1. Yusuff S., Kurath G., Kim M.S., Tesfaye T.M., Li J., McKenney D.G., Vakharia V.N. The glycoprotein, non-virion protein, and polymerase of viral hemorrhagic septicemia virus are not determinants of host-specific virulence in rainbow trout. *Virol J*. 2019; 16(1):31. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1139-3>

2. Baillon L., Mérour E., Cabon J., Louboutin L., Vigouroux E, Alencar ALF, Cuenca A, Blanchard Y, Olesen NJ, Panzarin V, Morin T, Brémont M, Biacchesi S. The Viral Hemorrhagic Septicemia Virus (VHSV) Markers of Virulence in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Front Microbiol*. 2020; 11:574231. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.574231>

3. Kim H.J., Cuenca A., Olesen N. J Validation of a novel one-step reverse transcription polymerase chain reaction method for detecting viral haemorrhagic septicaemia virus. *Aquaculture*. 2018; 492:170-183. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.047>

4. Ito T., Kurita J., Mori K., Olesen N.J. Virulence of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) genotype III in rainbow trout. *Vet Res*; 47:4. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0303-z>

5. Pylnov V.A., Burlachenko I.V., Bychkova L.I. Application of the nest PCR variant (RT-PCR) for the diagnosis of hemorrhagic septicemia virus in salmon fish. *Current issues of freshwater aquaculture : Collection of scientific papers of Branch for the freshwater fisheries of the Federal State Budget Scientific Institution "Russian Federal Research Institute of Fisheries and oceanography"*. 2023; 94:122-129 (In Russ.).

6. Anisimova E.A., Dodonova E.A., Mirgazov D.A., Fakhrutdinov N.A., Elizarova I.A., Pankova E.V., Osyanin K.A. Selection of optimal conditions of PCR setup to identify canine brucellosis causative agent. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2023; 12(230):55-59. <https://doi.org/10.53083/1996-4277-2023-230-12-55-59> (In Russ.).

7. Gromova E.A., Mirgazov D.A., Dodonova E.A., Elizarova I.A., Gorbunova M.E., Osyanin K.A. Development of a multiplex RT-PCR test system for detecting the causative agent of brucellosis. *The Veterinarian*. 2024; 3:34-40. https://doi.org/10.33632/1998-698X_2024_3_34 (In Russ.).

8. Gromova E.A., Osyanin K.A., Dodonova E.A., Gorbunova M.E., Khammatov N.I., Makaeva A.R. Genetic markers for PCR indication of salmonid infectious hematopoietic necrosis virus. *Bulletin of Kursk State Agricultural Academy*. 2024; 5:88-94 (In Russ.).

9. Chico V., Gomez N., Estepa A., Perez L. Rapid detection and quantitation of viral hemorrhagic septicemia virus in experimentally challenged rainbow trout by real-time RT-PCR. *J Virol Methods*. 2006; 132(1-2):154-9. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.10.005>

10. Warg J.V, Clement T., Cornwell E.R, Cruz A., Getchell R.G, Giray C., Goodwin A.E, Groocock G.H., Faisal M., Kim R., Merry G.E., Phelps N.B., Reising M.M., Standish I., Zhang Y., Toohey-Kurth K. De-

tection and surveillance of viral hemorrhagic septicemia virus using real-time RT-PCR. II. Diagnostic evaluation of two protocols. Dis Aquat Organ. 2014; 111(1):15-22. <https://doi.org/10.3354/dao02758>

11. Tarasova A. S., Perchun A. V., Melnikov V. P. Polymerase chain reaction for detection of some highly dangerous viral fish disease agents. Veterinary Science To-

day. 2020; 1(32):11-16. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-1-32-11-16>

12. Perchun A.V., Vorobyov V.V., Melnikov V.P. Detection of particularly dangerous viral diseases of salmon fish (*Salmo salar*) using polymerase chain reaction. Fisheries. 2022; 5:88-93. <https://doi.org/10.37663/0131-6184-2022-5-88-93>

УДК: 615.33:619:636.5.034
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.39

ОСОБЕННОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ЦЫПЛЯТ, ЗАРАЖЕННЫХ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* С РАЗЛИЧНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Юрин Д.В.* – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9380-4136); Скворцов В.Н. – д-р ветеринар. наук, руководитель Белгородского филиала ВИЭВ (ORCID 0000-0002-9629-0000); Логвинова С.С. – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-7586-6667); Лопунов С.В. – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3201-1065)

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский
научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии
имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»

*bes512@yandex.ru

Ключевые слова: цыплята; экспериментальное заражение, стафилококкоз; *Staphylococcus aureus*; MRSA и MSSA; антимикробные препараты, фторхинолоны.

Key words: chicks; experimental infection, staphylococcosis; *Staphylococcus aureus*; MRSA and MSSA; antimicrobials, fluoroquinolones.

Поступила: 30.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Патологии, вызываемые золотистым стафилококком у домашних птиц, являются серьезной проблемой птицеводства. В работе рассмотрены некоторые аспекты течения и лечения заболевания, экспериментально вызванного у цыплят метициллинрезистентным (MRSA) и метициллинчувствительным (MSSA) изолятами *Staphylococcus aureus*. Экспериментальную инфекцию у цыплят кросса Хайссекс-Браун воспроизводили внутрибрюшинной инъекцией 0,5 мл суспензии возбудителя в концентрации 300 миллионов микробных тел (2 McFarland). Достоверно установлено, что при заражении цыплят культурой MRSA клинические признаки стафилококкоза развиваются в среднем на одни сутки раньше, чем после заражения MSSA, они носят более тяжелый характер и гораздо чаще заканчиваются гибелью подопытных. Была изучена эффективность антимикробных препаратов (линкомицин, энрофлоксацин и левофлоксацин), назначаемых с водой в дозе 300 мг/л воды в течение пяти суток, для лечения цыплят, зараженных стафилококками с различной чувствительностью к вышеуказанным препаратам. Установлено, что выпаивание линкомицина, энрофлоксацина и левофлоксацина в дозе 300 мг/л при лечении экспериментального стафилококкоза цыплят, вызванного MRSA, оказалось малоэффективным. Так, при назначении энрофлоксацина, падеж среди зараженных цыплят составил 84%, линкомицина – 76% и левофлоксацина – 56%. Напротив, лечение экспериментальной стафилококковой инфекции цыплят, вызванной чувствительным к задействованным в опыте антимикроб-

ным препаратам изолятом, дало значительно более высокие результаты. Особенно высокий эффект (92% выживших) лечения был получен при назначении энрофлоксацина. Несколько меньшие значения лечебной эффективности (76% выживших) достигнуты в результате применения лекарственных средств линкомицина и левофлоксацина.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Этиология стафилококкоза птиц в значительной мере связана с таким возбудителем, как золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) [1; 2; 3; 4]. Вызываемые им патологии широко распространены и могут носить как острое, так и хроническое течение. После заражения и развития заболевания у птицы регистрируют различные клинические симптомы, наиболее частыми из которых являются артриты, тендовагиниты и стафилококковая септицемия [5]. Течение инфекции, зачастую, бывает стремительным и непредсказуемым, способно привести к множественным необратимым повреждениям суставов, и, как следствие, значительным экономическим потерям в птицеводстве [6].

Вирулентность золотистого стафилококка зависит от различных факторов, включая внеклеточные белки, ферменты и токсины. Кроме того, большинство изолятов *S. aureus* продуцируют различные суперантигены, включая стафилококковые энтеротоксины (SE), SE-подобные токсины (SEIs) и токсин синдрома токсического шока (TSST-1) [7]. Возбудители, способные продуцировать подобные токсины, могут стать причиной тяжелых отравлений после употребления в пищу продуктов птицеводства, обсемененных *S. aureus* [8].

Особую обеспокоенность исследователей вызывает способность штаммов *S. aureus* быстро приобретать устойчивость к антимикробным препаратам, в том числе к нескольким соединениям сразу [6].

Появление метициллинрезистентных культур золотистого стафилококка (MRSA), сопровождаемое множественной лекарственной устойчивостью, на данный момент является одной из важнейших проблем, стоящих перед микробиологами всего мира [9].

Одна из первых метициллинрези-

стентных культур *S. aureus*, выделенная от продуктивных животных (LA-MRSA), была изолирована в 1972 году из молока больных маститом коров [10]. С тех пор распространение LA-MRSA только увеличивается, а сам тип LA-MRSA регистрируют в разных странах мира у многих видов животных, включая птиц [11; 12].

Кроме того, имеются данные о множественной лекарственной устойчивости (MDR) к трем или более классам антимикробных препаратов и у изолятов метициллинчувствительных *S. aureus* (MSSA), выделенных от человека и животных [13].

Поэтому контроль за распространением устойчивости к антимикробным препаратам среди изолятов MRSA и MSSA и разработка методов ее преодоления остается приоритетной задачей, решение которой позволит в значительной мере снизить издержки современного птицеводства.

Целью данной работы было изучение некоторых особенностей течения инфекции у цыплят, экспериментально зараженных изолятами золотистого стафилококка с различной чувствительностью к антимикробным препаратам, в том числе к метициллину. Также была отработана методика лечения зараженных цыплят препаратами различных фармакологических групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование было выполнено на цыплятах кросса Хайсекс-Браун суточного возраста, не имевших контакта с какими-либо возбудителями и лекарственными средствами.

Для лечения цыплят, зараженных *Staphylococcus aureus*, экспериментальные группы формировали из птиц без каких-либо клинических признаков заболевания по 25 голов в каждой. Для кон-

троля развития заболевания без вмешательства были взяты две группы, в которых цыплята были заражены, но не получали лечения.

В работе была исследована возможность использования линкомицина, энрофлоксацина и левофлоксацина с водой в дозе 300 мг/л для лечения цыплят, зараженных изолятами MRSA и MSSA, в том числе обладающих различной чувствительностью к антимикробным препаратам нескольких классов (β -лактамы, аминогликозиды, макролиды, линкозамиды, фторхинолоны и др.). Отличием изолята MRSA являлась его полная устойчивость к препаратам всех перечисленных групп, за исключением карбапенемов и некоторых представителей аминогликозидов (амикацин). Напротив, культура MSSA была чувствительна к действию большинства антимикробных препаратов, в том числе и метициллина.

В исследовании были использованы жидкие лекарственные формы препаратов ветеринарного назначения, которые начинали выпаивать за двое суток до заражения общей длительностью 5 дней.

Патогены вводили внутриветеринарно в виде суспензии в 0,9% растворе натрия хлорида (NaCl). Необходимая для инфицирования минимальная заражающая доза (DLM) была экспериментально установлена в предварительном исследовании, и составила 300 миллионов микробных тел в объеме 0,5 мл. Выбор именно этой концентрации возбудителей в качестве DLM обусловлен тем обстоятельством, что после ее введения развитие симптомов заболевания у цыплят, как и их гибель, были оптимальны в рамках использованной в опыте модели инфекции. В соответствии с целью и поставленными задачами заражающие патогены вводили цыплятам в концентрации 1 DLM.

Суспензию возбудителей готовили непосредственно перед заражением с помощью оптического прибора Densi-Lameter (PLIVA-Lachema a.s.) таким образом, чтобы она соответствовала значению №2 по шкале мутности стандарта McFar-

land (600 миллионов микробных тел в 1 мл).

Наблюдение за птицей осуществляли в течение 10 дней. В этот период проводили учет заболеваемости, клинических проявлений и смертности цыплят. Окончательный контроль эффективности использованных доз препаратов проводили после вычисления средней продолжительности жизни (СПЖ) цыплят в опыте на протяжении периода наблюдения (25 цыплят по 10 дней, максимально 250 дней). Исходя из этого, соответствующий препарат считали высокоактивным при СПЖ птицы в 80–100% от максимальной, активным – при СПЖ – 40 – 80%, слабоактивным – СПЖ менее 40 %, и неактивным – при недостоверной разнице с контрольной группой [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Прежде всего следует отметить, что методика внутриветеринарного заражения цыплят является одной из наименее травмирующих и вызывающий стресс у птицы. Непосредственно после инъекции патогенов и на протяжении нескольких дней после нее у цыплят практически не менялось потребление корма и воды, их активность также оставалась на прежнем уровне. Первые симптомы поражения опорно-двигательного аппарата у зараженной птицы проявлялись на 2-4 сутки после заражения. Достоверно установлено, что при заражении цыплят культурой MRSA клинические признаки стафилококкоза развивались в среднем на одни сутки раньше, чем после заражения MSSA, они носили более тяжелый характер и гораздо чаще заканчивались гибелью подопытных. Так, в соответствующей контрольной группе (№7) погибло 76% цыплят, а их СПЖ составила всего 37,6% от возможной (Таблица 1). При этом за весь период наблюдения из 6 (24%) выживших только у 2 (8%) не наблюдалось каких-либо патологий суставов.

Данные, полученные при обработке результатов выпаивания линкомицина, энрофлоксацина и левофлоксацина для

лечения цыплят, зараженных MRSA и MSSA, представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, культура MSSA в соответствующей контрольной группе (№8) была несколько менее вирулентна, чем возбудитель MRSA. Смертность среди зараженных ею цыплят не превышала 44%, а их суммарная продолжительность жизни достигла 69,6%. Вместе с тем, на протяжении всего опыта в данной группе регистрировалось значительное количество птиц с поражением опорно-двигательного аппарата от легкой степени хромоты до полной потери подвижности. Это обстоятельство позволяет с высокой степенью достоверности использовать данный изолят MSSA для моделирования стафилококковой инфекции у цыплят.

Интерпретация полученных результатов показывает, что для эффективного лечения цыплят, зараженных MRSA с MDR, применение взятых в исследование препаратов нецелесообразно. Так, при

назначении линкомицина и энрофлоксацина в дозе 300 мг/л воды суммарная продолжительность жизни цыплят составила всего 35,2% и 30,4% от возможной, а смертность в соответствующих группах достигла 76% и 84%, что позволило их отнести к слабоактивным.

Выпаивание левофлоксацина было более результативным. Продолжительность жизни цыплят, получавших данный препарат с водой, составила 57,2%, позволяя считать его в данном опыте активным. Вместе с этим, следует учитывать, что смертность среди поголовья в этой группе была значительной, равняясь 56%.

Значительно более высокие результаты были получены при лечении стафилококковой инфекции цыплят, вызванной чувствительным к метициллину штаммом (MSSA). Так, при назначении энрофлоксацина в дозе 300 мг/л воды выживаемость цыплят составила 92%, а их СПЖ – 97,6%, что с уверенностью позволяет отнести препарат к высокоактивным.

Таблица 1 – Эффективность антимикробных препаратов при экспериментальном стафилококкозе цыплят

№ гру п- пы	Возбудитель	Доза, мг/ литр воды	Ко- во цып- лят	Выжило		Пало		Продолжи- тельность жизни, дни и % от макси- мально воз- можного	
				Го- лов	%	Го- лов	%	Дней	%
Линкомицин									
1	MRSA	300	25	6	24	19	76	88	35,2
2	MSSA	300	25	19	76	6	24	219	87,6
Энрофлоксацин									
3	MRSA	300	25	4	16	21	84	76	30,4
4	MSSA	300	25	23	92	2	8	244	97,6
Левофлоксацин									
5	MRSA	300	25	11	44	14	56	143	57,2
6	MSSA	300	25	19	76	6	24	203	81,2
Контроль									
7	MRSA	—	25	6	24	19	76	94	37,6
8	MSSA	—	25	14	56	11	44	174	69,6

Менее эффективны в данном исследовании были линкомицин и левофлоксацин. Продолжительность жизни цыплят в соответствующих группах равнялась 87,6% и 81,2% от максимально возможной, что так же позволяет считать их высокоактивными.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Для эффективного лечения стафилококкоза цыплят, вызванного возбудителем с множественной лекарственной устойчивостью применение энрофлоксацина, линкомицина и левофлоксацина не целесообразно.

При заражении цыплят *Staphylococcus aureus* с высокой чувствительностью к метициллину и ряду других антимикробных препаратов (MSSA) эффективность назначения данных антимикробных средств существенно увеличивается. Все препараты можно считать высокоактивными, но в приоритете будет назначение энрофлоксацина, так как данный препарат показал наибольшую лечебную эффективность (92% выживших).

PECULIARITIES IN TREATMENT OF CHICKENS, INFECTED WITH *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* WITH VARIABLE SUSCEPTIBILITY TO ANTIMICROBIALS

Yurin D.V.* – C. Vet. Sci., Leading Researcher (ORCID 0000-0001-9380-4136); **Skvortsov V.N.** – Dr. Vet. sci., Head of Belgorod Department of FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000 0002 9629 0000); **Logvinova S.S.** – Junior Researcher (ORCID 0000-0001-7586-6667); **Lopunov S.V.** – C. Vet. Sci., Senior Researcher (ORCID 0000-0003-3201-1065)

FGBNU "Federal Scientific Centre — All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Scriabin and Ya. R. Kovalenko of Russian Academy of Sciences"

*bes512@yandex.ru

ABSTRACT

Pathology caused by *S. aureus* in poultry remain a matter of much concern for poultry industry. In the present article we study certain aspects of infection, experimentally induced in chickens with *Staphylococcus aureus*, namely methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) and of its treatment. Chickens of Hisex Brown cross were challenged by intraperitoneal injection of *Staphylococcus aureus* in suspension at a dose 3.0×10^8 CFUs / 0.5 mL (2 McFarland/0.5 mL). The reliable data that we obtained show that the clinical signs of staphylococcosis develop in chickens 24 hours sooner on the average when the chickens have been challenged with MRSA than after the challenge with MSSA. In the former case the clinical signs are more severe and result in the death of model animals much more often. We studied the effectiveness of some antimicrobials such as lincomycin, enrofloxacin and levofloxacin, administered via drinking water at a concentration 300 mg/L, for treatment of chickens, challenged with *S. aureus* with different susceptibility to the aforementioned drugs. We proved that lincomycin, enrofloxacin and levofloxacin, administered via drinking water at a concentration 300 mg/L, for treatment of chickens, challenged with MRSA, have low effectiveness. Accordingly, the mortality rate for the chickens, treated with enrofloxacin was as high as 84%, lincomycin – 76% and levofloxacin – 56%. And on the contrary, the treatment of experimental staphylococcosis, caused by the isolate, susceptible to the above-mentioned drugs, led to much better results. Remarkably high effectiveness was achieved when we administered enrofloxacin (92%). The effectiveness was a little lower in the cases of lincomycin and levofloxacin (76%).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Аблов А.М. Таксономическая характеристика возбудителей бактериозов животных и птиц на территории Иркутской области / [А.М. Аблов и др.] // Аграрный вестник Северного Кавказа. – 2016. – №4

- (24). – С. 49-53.
2. Гордина Е.М. Сравнительная характеристика биологических свойств *S. aureus*, выделенных от человека и птиц / Е.М. Гордина, Э.С. Горовиц // Экология человека. – 2015. – №5, – С. 52-56.
 3. Видовое разнообразие представителей рода *Staphylococcus*, выделенных от домашних и сельскохозяйственных животных с различными гнойно-воспалительными заболеваниями/ А.А. Балбуцкая, О.А. Дмитриенко, А.В. Войтенко, В.Н. Скворцов // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 3. – С. 56-62.
 4. Балбуцкая А.А. Биологические свойства *Staphylococcus aureus*, выделенного от больной артритом птицы / А.А. Балбуцкая, В.Н. Скворцов // Ветеринарный врач. – 2019. №1. – С. 28-33.
 - 5 Pal, M. 2007. Zoonoses. 2nd Edition. Satyam Publishers, Jaipur, India.
 6. Pal M. et al. Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of *Staphylococcus aureus*: a comprehensive review // American Journal of Public Health Research. – 2020. – Т. 8. – №1. –pp. 14-21. DOI: 10.12691/ajphr-8-1-3.
 7. Ono HK, Sato'o Y, Narita K, Naito I, Hirose S, Hisatsune J, Asano K, Hu DL, Omoe K, Sugai M, Nakane A. Identification and Characterization of a Novel *Staphylococcal* Emetic Toxin. // Appl Environ Microbiol. – 2015 Oct; 81(20):7034-40. doi: 10.1128/AEM.01873-15. Epub 2015 Jul 31. PMID: 26231643; PMCID: PMC4579459.
 8. Hyeon JY, Chung GT, Bing SH, Kwon KS, Lee HH, Kim SJ, Jeon SE, Kang YH, Kim J. A foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* associated with fried chicken in Republic of Korea // J Microbiol Biotechnol. – 2013 Jan; 23(1):85-7. doi: 10.4014/jmb.1210.10022. PMID: 23314372.
 9. Chambers, H.F. and Deleo, F.R. Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era // Nature Reviews Microbiology. – 2009 №7. – 629-641.
 10. Devriese, L. A., Van Damme, L. R., Fameree, L. Methicillin (cloxacillin) - resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases // Zentralblatt für Veterinärmedizin. – 1972 Reihe B, 19, 598–605. DOI: 10.1111/j.1439-0450.1972.tb00439.x
 11. Chen C, Wu F. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) colonisation and infection among livestock workers and veterinarians: a systematic review and meta-analysis // Occup Environ Med. – 2020 Oct 23; oemed-2020-106418. doi: 10.1136/oemed-2020-106418. Epub ahead of print. PMID: 33097674.
 12. Liu B, Sun H, Pan Y, Zhai Y, Cai T, Yuan X, Gao Y, He D, Liu J, Yuan L, Hu G. Prevalence, resistance pattern, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy animals and sick populations in Henan Province, China // Gut Pathog. – 2018 Jul 17; 10:31. doi: 10.1186/s13099-018-0254-9. PMID: 30026814; PMCID: PMC6048774.
 13. Vandendriessche S, Vanderhaeghen W, Larsen J, de Mendonça R, Hallin M, Butaye P, Hermans K, Haesebrouck F, Denis O. High genetic diversity of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) from humans and animals on livestock farms and presence of SCCmec remnant DNA in MSSA CC398 // J Antimicrob Chemother. – 2014 Feb; 69(2):355-62. doi: 10.1093/jac/dkt366. Epub 2013 Sep 26. PMID: 24072172.
 14. Методы экспериментальной химиотерапии: Практик. руководство / Под ред. Г. Н. Першина. – 2-е изд. – Москва: Медицина, 1971. – 539 с. : ил.: 26 см.

REFERENCES

1. Ablov A.M., Taksonomicheskaja kharakteristika vozбудitelei bakteriozov zhivotnykh i ptits na territorii Irkutskoi oblasti [Taxonomical characteristic of agents of bacterial infectious diseases of animals and birds in Irkutsk region] / [A.M. Ablov et all.] // Agrarnyi vestnik Severnogo Kavkaza [Agrarian Bulletin of the North Caucasus]. – 2016, no. 4 (24), pp. 49-53 (In Russ.).
2. Gordina E.M., Sravnitel'naja kharakteristika biologicheskikh svoistv *S. aureus*, vydelennykh ot cheloveka i ptits

- [Comparative Characteristics of Biological Properties of *S. aureus* Isolated from Humans and Birds] / E.M. Gordina, E.S. Gorovitz // *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. – 2015, no. 5, pp. 52-56 (In Russ.).
3. Vidovoe raznoobrazie predstaviteley roda *Staphylococcus*, vydelennykh ot domashnikh i sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh s razlichnymi gnoyno-vospalitel'nymi zabolevaniyami [Species diversity of members of the genus *Staphylococcus* isolated from domestic and farm animals with different purulent and inflammatory diseases] / A.A. Balbutskaya, O.A. Dmitrenko, A.V. Voitenko, V.N. Skvortsov // *Mezhdunarodny vestnik veterinarii* [International bulletin of Veterinary Medicine]. – 2015, no. 3, pp. 56-62 (In Russ.).
4. Balbutskaya A.A. Biologicheskiye svoystva *Staphylococcus aureus*, vydelennogo ot bol'noi artritom ptitsy [Biological properties of *Staphylococcus aureus* isolated from poultry with arthritis] / A.A. Balbutskaya, V.N. Skvortsov // *Veterinarnyi vrach* [The Veterinarian]. – 2019, no. 1, pp. 28-33 (In Russ.).
5. Pal, M. 2007. Zoonoses. 2nd Edition. Satyam Publishers, Jaipur, India.
6. Pal M. et al. Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of *Staphylococcus aureus*: a comprehensive review // *American Journal of Public Health Research*. – 2020. – T. 8. – №. 1. – pp. 14-21. DOI: 10.12691/ajphr-8-1-3.
7. Ono HK, Sato'o Y, Narita K, Naito I, Hirose S, Hisatsune J, Asano K, Hu DL, Omoe K, Sugai M, Nakane A. Identification and Characterization of a Novel *Staphylococcal* Emetic Toxin. *Appl Environ Microbiol*. 2015 Oct; 81(20):7034-40. doi: 10.1128/AEM.01873-15. Epub 2015 Jul 31. PMID: 26231643; PMCID: PMC4579459.
8. Hyeon JY, Chung GT, Bing SH, Kwon KS, Lee HH, Kim SJ, Jeon SE, Kang YH, Kim J. A foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* associated with fried chicken in Republic of Korea. *J Microbiol Biotechnol*. 2013 Jan; 23(1):85-7. doi: 10.4014/jmb.1210.10022. PMID: 23314372.
9. Chambers, H.F. and Deleo, F.R. (2009). Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. *Nature Reviews Microbiology*, 7: 629-641
10. Devriese, L.A., Van Damme, L.R., & Fameree, L. (1972). Methicillin (cloxacillin) - resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*. Reihe B, 19, 598-605. DOI: 10.1111/j.1439-0450.1972.tb00439.x
11. Chen C, Wu F. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) colonisation and infection among livestock workers and veterinarians: a systematic review and meta-analysis. *Occup Environ Med*. 2020 Oct 23: oemed-2020-106418. doi: 10.1136/oemed-2020-106418. Epub ahead of print. PMID: 33097674.
12. Liu B, Sun H, Pan Y, Zhai Y, Cai T, Yuan X, Gao Y, He D, Liu J, Yuan L, Hu G. Prevalence, resistance pattern, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy animals and sick populations in Henan Province, China. *Gut Pathog*. 2018 Jul 17; 10:31. doi: 10.1186/s13099-018-0254-9. PMID: 30026814; PMCID: PMC6048774.
13. Vandendriessche S, Vanderhaeghen W, Larsen J, de Mendonça R, Hallin M, Butaye P, Hermans K, Haesebrouck F, Denis O. High genetic diversity of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) from humans and animals on livestock farms and presence of SCCmec remnant DNA in MSSA CC398. *J Antimicrob Chemother*. 2014 Feb;69(2):355-62. doi: 10.1093/jac/dkt366. Epub 2013 Sep 26. PMID: 24072172.
14. Methods of experimental chemotherapy: Practical guide / Edited by G.N. Pershin. – 2nd ed. – Moscow: Medicine, 1971. – 539 p.: ill.: 26 cm (In Russ.).

УДК: 636.5.034:615.371

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.46

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И БЕЗВРЕДНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО КАНДИДАТНОГО ШТАММА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ГРИППА ПТИЦ H5N1

Тарлавин Н.В.^{1*} – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-6474-9171); **Веретенников В.В.**¹ – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0001-9648-2259); **Джавадов Э.Д.**¹ – д-р ветеринар. наук, проф. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-1589-6300); **Сергеева М.В.**² – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории векторных вакцин (ORCID 0000-0003-0411-9896); **Кудря К.С.**² – лаборант-исследователь (ORCID 0000-0003-4774-4294); **Красков Д.А.**¹ – асп. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-2362-2641); **Яковлева А.С.**¹ – студ. 5 курса ФВМ (ORCID 0009-0003-1063-1690); **Горбаков М.Е.**¹ – студ. 4 курса ФВМ (ORCID 0009-0009-6912-2413); **Калиматова А.А.**¹ – студ. 4 курса ФВМ (ORCID 0009-0004-1478-8705); **Хрипункова Д.С.**¹ – студент 4 курса ФВМ (ORCID 0009-0008-3517-3776)

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

² ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»

*tarlav1995@bk.ru

Ключевые слова: высокопатогенный грипп птиц, H5N1, обратная генетика, рекомбинантные вакцины, безвредность вакцин, безопасность вирусов.

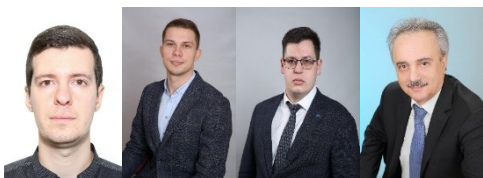
Keywords: highly pathogenic avian influenza, H5N1, reverse genetics, recombinant vaccines, vaccine safety, virus safety.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-76-10044, <https://rscf.ru/project/24-76-10044>

Поступила: 13.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

В рамках работ по гранту РНФ № 24-76-10044 был получен кандидатный вакцинный штамм вируса гриппа птиц A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1), обладающий низковирулентным фенотипом вследствие замены сайта расщепления гемагглютинина. В статье представлены результаты исследований безопасности и безвредности рекомбинантного штамма вируса гриппа птиц A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1). У эмбрионов, инфицированных рекомбинантным вирусом, не наблюдались геморрагии и повреждения. Полученные данные свидетельствуют о безопасности вируса A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) для куриных эмбрионов. Изучение безвредности проводили при внутрибрюшинном введении белым мышам неинaktivированного вируса (данная группа также служила контролем для инаktivированных препаратов), и при введении вируса, инаktivированного формали-

ном, бетапропиолактоном и смесью теотропина и мертиолята. Значительной потери веса ни в одной из наблюдаемых групп не было обнаружено, что свидетельствует о безвредности штамма A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 для белых беспородных мышей, а также хорошей переносимости препаратов, полученных с применением всех исследованных схем инактивации. Безвредность инактивированной вакцины, изготовленной на основе изучаемого штамма вируса с добавлением гидроксида алюминия в качестве адьюванта, проверяли путем изучения изменения живой массы суточных цыплят кросса Декалб Уайт. Во всех 3-х исследуемых группах полностью отсутствовали следы истощения, интоксикации, а также следы проявления болезни, что говорит о полной инактивации и безвредности вируса. Оценка безвредности вакцины также была проведена на десяти 150-дневных курах кросса Доминант. После введения 10-кратной прививной дозы в грудную мышцу за птицами наблюдали в течение 28 сут.. Все куры в течение указанного времени остались живыми, без видимых клинических признаков переболевания и в месте введения вакцины отсутствовали следы воспалительной реакции. Можно сделать вывод, что штамм A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) безопасен, а инактивированные вакцины, изготовленные из данного штамма, полностью безвредны..

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Вирусы гриппа птиц вызывают серьезную опасность и требуют постоянного наблюдения со стороны мирового общественного здравоохранения [2]. Высокопатогенный вирус гриппа птиц типа А подтипа H5N1 вызывает серьезные вспышки заболевания и является причиной массовой гибели домашней птицы, что приводит к огромным экономическим потерям в промышленном птицеводстве [6]. Традиционно возбудителями высокопатогенного гриппа птиц считаются вирусы гриппа типа А подтипов H5N1 и H7N9 [5, 9]. Однако высоковирулентный фенотип вируса определяется не подтипом вируса, а сайтом расщепления гемагглютинина, который даже в вирусах гриппа подтипа H5N1 и H7N9 может соответствовать низковирулентным профилям [4]. Оценивается вирулентность изолята вируса гриппа при помощи измерения индекса внутривенной патогенности (IVPI), а также путем оценки патоморфологических изменений в зараженном развивающемся курином эмбрионе при проведении вирусологического исследования.

В природе встречаются естественно-аттенуированные низковирулентные штаммы вируса гриппа подтипа H5N1. Однако наиболее надежный и быстрый способ получить вакцинный кандидат предоставляют методы геномного редак-

тирования микроорганизмов с последующей сборкой вакцинного штамма методами обратной генетики [8]. Данная работа была проведена в рамках гранта Российского научного фонда № 24-76-10044 по разработке российских рекомбинантных вакцин против высоко- и низкопатогенного гриппа птиц для ветеринарного применения.

Наиболее эффективным способом профилактики эпидемий и панзоотий гриппа в большинстве стран считается вакцинация [7]. Для профилактики высокопатогенного гриппа широко распространено применение инактивированных вакцин, доклинические испытания которых обязательно включают в себя оценку безвредности вакцины [1]. Также безопасность применяемых вакцинных вирусов оценивается на лабораторных животных, восприимчивых к вирусам гриппа птиц (лабораторные мыши, хорьки, морские свинки и прочие).

Целью данной работы является оценка безопасности низковирулентного высокопродуктивного вакцинного штамма A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1), сконструированного с помощью метода обратной генетики, предназначенного для создания ветеринарной вакцины для домашней птицы, а также оценка безвредности кандидатной вакцины, созданной на основе данного штамма согласно требованиям ГОСТ 31926-2013 к препаратам для вете-

ринарного применения. Штамм A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) задепонирован в Государственной Коллекции Вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ» им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Место выделения – Лаборатория векторных вакцин ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России в рамках выполнения проекта РНФ 24-76-10044.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для оценки безопасности рекомбинантного вируса использовали 10-дневные развивающиеся куриные эмбрионы (РКЭ), которые исследовали на наличие поражений через 36 ч после заражения. После окончания инкубации проверяли жизнеспособность эмбрионов визуально с использованием овоскопа, после чего эмбрионы охлаждали при 4°C в течение 5 часов и вскрывали. Аллантоис проверяли на гемагглютинирующую активность вируса, эмбрионы извлекали и осматривали на предмет повреждений.

Материал для инаktivации получали накоплением вируса в системе РКЭ. Титр вируса до инаktivации составлял 9,4 lg ЭИД₅₀/1 мл. Вирус без инаktivации хранили при температуре 4°C в течение 3 дней. Для последующего проведения опыта по оценке безопасности кандидатного штамма вирус был инаktivирован 3-мя различными способами (формалин, бетапропиолактон, смесь теотропина и мертиолята). Формалин (ООО «Октан») добавляли к вирусу до конечной концентрации 0,04% (по формальдегиду), инкубировали при температуре 37°C в течение 16 часов, после чего инаktivированный вирус хранили при температуре 4°C. Бетапропиолактон (SERVA) добавляли к вирусу до конечной концентрации 0,1%, инкубировали в течение 16 часов при температуре 4°C, после чего в течение 2 часов при температуре 37°C для полной инаktivации остатков бетапропиолактона. Для инаktivации смесью теотропина (ООО «БИОФАРМ») и мертиолята (Диаэм) сперва к вирусу добавляли теотропин до конечной концентрации

0,6%, инкубировали вирус в течение 24 часов при температуре 37°C, после чего к вирусу с теотропином добавляли мертиолят (с целью стабилизации и антимикотической обработки инаktivированного вируса) до конечной концентрации 0,01%, инкубировали в течение 24 часов при температуре 37°C. Инаktivированные вирусы хранили при температуре 4°C в течение 3 дней. После проведения инаktivации вируса вышеперечисленными способами проводили оценку полноты инаktivации путем проведения 3-кратных последовательных пассажей на 10-дневных РКЭ. Аллантоис эмбрионов проверяли на гемагглютинирующую активность вируса, во всех трех пассажах данная активность отсутствовала.

В эксперименте использовали белых беспородных мышей самцов. Каждая группа содержала по 6 мышей согласно МУ 3.3.2.1758-03. Мышей в каждой группе маркировали биологическими красками. В зависимости от группы мышам вводили 0.5 мл внутривенно препарат (вирус без инаktivации, формалин-инаktivированный вирус, вирус, инаktivированный бетапропиолактоном или вирус, инаktivированный смесью теотропина и мертиолята [3]). Группа интактных животных служила для контроля фоновых параметров иммунного ответа и контроля веса/выживаемости для определения безвредности. Мышей иммунизировали дважды с интервалом 21 день. Контролем изменения массы тела служила группа интактных животных. На протяжении 7 дней после каждой иммунизации мониторили изменение массы тела мышей.

Для оценки безвредности биопрепаратов на основе штамма A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) у суточных цыплят подготовили кандидатную вакцину путем инаktivации вируса формальдегидом с добавлением в качестве адьюванта гидроксида алюминия до конечной концентрации 0,2%.

Из клинически здоровых цыплят сформировали 3 группы, по 10 голов в каждой, по следующей схеме:

группа № 1 — суточные цыплята кросса «Декалб Уайт», вакцинированные в дозе 8,0 lg ЭИД50 на 1 гол. подкожно в объеме 0,5 мл;

группа № 2 — суточные цыплята кросса «Декалб Уайт», вакцинированные в дозе 8,0 lg ЭИД50 на 1 гол. подкожно в объеме 0,5 мл, ревакцинированные в аналогичной дозе в 14 сутки;

группа № 3 — контрольная, интактные суточные цыплята кросса «Декалб Уайт».

Безвредность данной вакцины у взрослых птиц проверяли на десяти 150-дневных курах породы Доминант введением 10-кратной прививной дозы внутримышечно в грудную мышцу в соответствии с ГОСТ 31926-2013 «СРЕДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ. Методы определения безвредности». Все процедуры, выполненные с участием животных, соответствовали этическим стандартам, принятым Европейской конвенцией ETS № 123.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

У эмбрионов, инфицированных живым вирусом A/Syktvkar/PR8/6:2/HA20, не наблюдались геморагии и повреждения. Все эмбрионы были живыми на момент снятия с инкубации (36 часов инкубации). Визуально инфицированные эмбрионы не имели значительных отличий от контрольных. Полученные данные свидетельствуют о безопасности вируса A/Syktvkar/PR8/6:2/HA20 для РКЭ. Данная картина сложилась вследствие произведенной замены в сайте расщепления гемагглютинаина на этапе сборки вируса методами обратной генетики, из-за чего вирус A/Syktvkar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) приобрел низкопатогенный профиль и потерял способность вызывать патоморфологические изменения у эмбрионов.

Изучение безвредности проводили при внутрибрюшинном введении белым мышам неинaktivированного вируса, и при введении вируса, инаktivированного формалином, бетапропиолактоном и смесью теотропина и мертиолята. Для контроля общего состояния ещё одну группу животных составляли интактные мыши.

В течение 7 дней после каждой иммунизации проводили мониторинг изменения массы тела мышей (рис 2). На графике представлены средние значения по каждой группе для изменения веса в обозначенный день относительно для иммунизации в процентах. Значительной потери веса ни в одной из наблюдаемых групп не было обнаружено, что свидетельствует о безвредности штамма A/Syktvkar/PR8/6:2/HA20 для белых беспородных мышей, а также хорошей переносимости препаратов, полученных с применением всех исследованных схем инаktivации. Также ни в одной исследуемой группе не было отмечено ни гибели мышей, ни прочих проявлений клинических проявлений гриппа, включая группу, которой ввели не инаktivированный вирус. Данный результат подтверждает полученные ранее данные о низкопатогенном профиле созданного вакцинного рекомбинантного штамма.

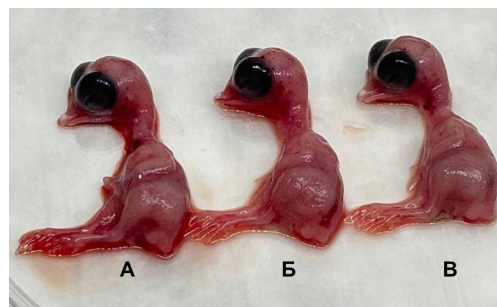


Рисунок 1 – Фотография извлеченных эмбрионов. А, Б – эмбрионы, инфицированные вирусом A/Syktvkar/PR8/6:2/HA20. В – контрольный эмбрион.

Также безвредность инаktivированной вакцины, изготовленной на основе вируса A/Syktvkar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) с добавлением гидроксида алюминия в качестве адьюванта, проверяли путем изучения изменения живой массы суточных цыплят кросса Декалб Уайт (рисунок 3). К 28-му дню наблюдений живая масса цыплят колебалась от 205 г в группе, иммунизированной дважды, до 237 г в контрольной группе. Разница между средней живой массой в контрольной группе и

группе №1 (вакцинированной однократно), составила 11,5 г. Во всех трех исследуемых группах полностью отсутствовали следы истощения, интоксикации, а также следы проявления болезни, что говорит о полной инаktivации вируса и безвредности вакцинного препарата на его основе.

Согласно ГОСТ 31926-2013 “СРЕДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ. Ме-

тоды определения безвредности” была проведена оценка безвредности вакцины на десяти 150-дневных курах кросса Доминант. После введения 10-кратной прививной дозы в грудную мышцу за птицами наблюдали в течение 28 суток. Все куры в течение указанного времени остались живыми, без видимых клинических признаков заболевания, и в месте введения вакцины отсутствовали следы воспалительной реакции.

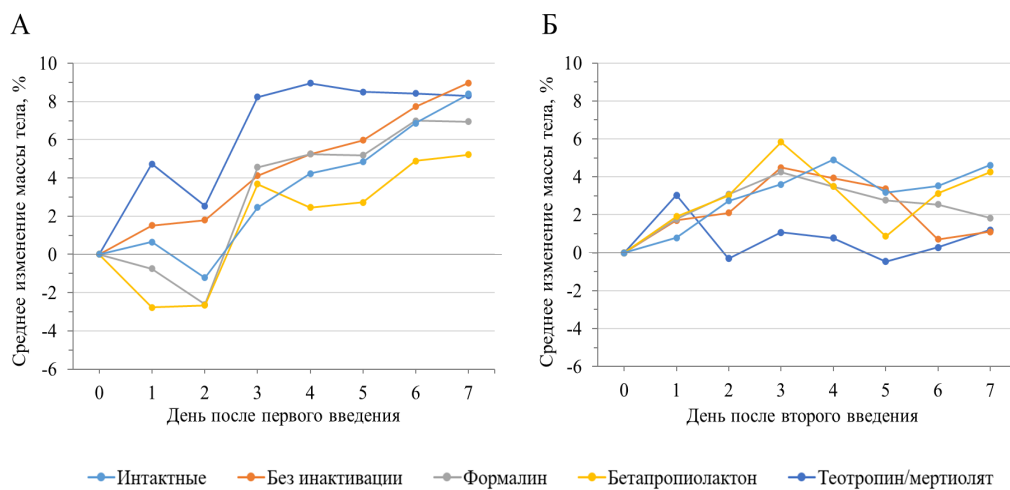


Рисунок 2 – Изменение массы тела мышей в процентах от исходной. (А) после первого введения вируса, (Б) после второго введения вируса.

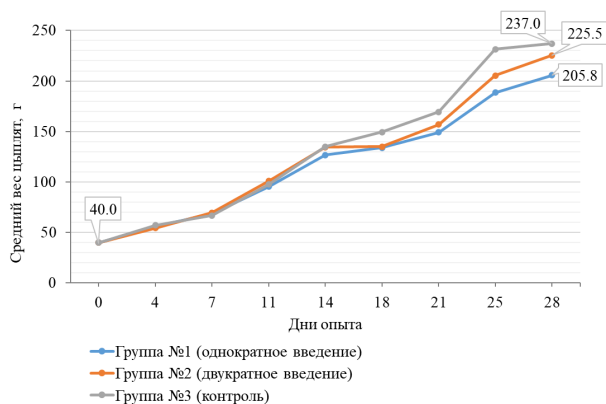


Рисунок 3 – Изменение массы тела цыплят после иммунизации.

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

Созданный в рамках работ по гранту Российского научного фонда № 24-76-10044 рекомбинантный вакцинный штамм A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) обладает низковирулентным фенотипом, а вакцины, изготовленные на его основе, полностью безвредны. Данные результаты были получены путем оценки патоморфологических изменений зараженных куриных эмбрионов в сравнении с контролем, а также путем введения вакцин на основе данного вируса лабораторным (мыши) и целевым (суточные цыплята) животным. В течение всего периода наблюдения, иммунизированные лабораторные и целевые животные не проявили признаков истощения, интоксикации и задержки в развитии, а их живая масса набиралась в пределах физиологической нормы. Гидроксид алюминия, примененный в качестве адъюванта, также не вызвал у подопытных цыплят воспалительной реакции, и, следовательно, подходит для создания вакцины. Таким образом можно сделать вывод, что штамм A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) безопасен, а инаktivированные вакцины, изготовленные из данного штамма, полностью безвредны.

ASSESSMENT OF THE SAFETY AND HARMLESSNESS OF A RECOMBINANT VACCINE STRAIN FOR THE PREVENTION OF HIGHLY PATHOGENIC H5N1 AVIAN INFLUENZA

Tarlavin N.V.^{1*} – Candidate of veterinary sciences, Senior lecturer of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-6474-9171), **Veretennikov V.V.**¹ – Senior lecturer of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0001-9648-2259), **Javadov E.J.**¹ – Doctor of Historical Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after V.P. Urbana (ORCID 0000-0002-1589-6300), **Sergeeva M.V.**² – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Vector Vaccines (ORCID 0000-0003-0411-9896), **Kudrya K.S.**² – Laboratory researcher (ORCID 0000-0003-4774-4294), **Kraskov**

D.A.¹ – postgraduate student of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-2362-2641), **Yakovleva A.S.**¹ – 5th year student (ORCID 0009-0003-1063-1690), **Gorbakov M.E.**¹ – 4th year student (ORCID 0009-0009-6912-2413), **Kalimatova A.A.**¹ – 4th year student (ORCID 0009-0004-1478-8705), **Khripunkova D.S.**¹ – 4th year student (ORCID 0009-0008-3517-3776)

¹ FSBEI HE SPbSUVM

² Smorodintsev Influenza Research Institute

*tarlav1995@bk.ru

Financing: *The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 24-76-10044, <https://rscf.ru/project/24-76-10044>*

ABSTRACT

Within the framework of the Russian Science Foundation Grant No. 24-76-10044, a candidate vaccine strain of avian influenza virus A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) was obtained, which has a low-virulent phenotype due to replacement of the hemagglutinin cleavage site. This virus does not cause the death of developing chicken embryos during incubation and the clinical manifestation of the disease in animals upon infection.

The article presents the results of studies on the safety and harmlessness of a recombinant strain of avian influenza virus A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 (H5N1). No hemorrhages or lesions were observed in embryos infected with the live recombinant virus. The data obtained indicate the safety of the A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 virus for embryonated chicken eggs. The study of harmlessness was carried out with intraperitoneal administration of an inactivated virus to white mice (this group also served as a control for inactivated drugs), and with the introduction of a virus inactivated with formalin, betapropiolactone and a mixture of theotropein and merthiolate. No significant weight loss was found in any of the observed groups, which indicates the harmlessness of the A/Syktvykar/PR8/6:2/HA20 strain for

white outbred mice, as well as the good tolerability of drugs obtained using all the studied inactivation schemes. The harmlessness of an inactivated vaccine made from the inactivated virus strain with the addition of aluminum hydroxide as an adjuvant was tested by studying changes in the live weight of one-day-old Dekalb White cross chickens. In all study groups, there were no signs of exhaustion, intoxication, or signs of disease, which indicates complete inactivation and harmlessness of the virus. An assessment of the vaccine's harmlessness was also carried out on ten 150-day-old Dominant chickens. After a 10-fold inoculation dose was injected into the pectoral muscle, the birds were monitored for 28 days. All chickens remained alive during the specified time, with no visible clinical signs of illness, and there were no signs of an inflammatory reaction at the injection site. Thus, it can be concluded that the A/Syktvkar/PR8/6:2/HA20 (H5N1) strain is safe, and inactivated vaccines made from this strain are completely harmless.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Борисов А.В. ФГУ «ВГНКИ» ВНИИЗЖ. Вакцина против гриппа птиц инактивированная эмульсионная. Патент № RU2323741C2. Россия, 2006 г.2
2. Джавадов Э.Д., Дмитриева М.Е. Грипп птиц. СПб, 2011.
3. Джавадов Э.Д., Хохлачев О.Ф., Новикова О.Б. [и др.] Изучение эффективности препарата Теотропин р⁺ в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц. *Международный вестник ветеринарии*, 2020, 3: 76-82 (doi: 10.17238/issn2072-2419.2020.3.76).
4. Киселев О.И., Цыбалова Л.М., Покровский В.И. Состояние разработки вакцин против вируса гриппа H5N1 в мире и России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2006 (5): 28–38.
5. Тарлавин Н.В., Веретенников В.В., Джавадов Э.Д. [и др.]. Сравнительный анализ кодирующих последовательностей пятого и седьмого сегмента генома вируса гриппа А подтипов H5N1, H7N9, H9N2. *Ветеринария Кубани*, 2023, 4: 3-5 (doi: 10.33861/2071-8020-2023-4-3-5).
6. Charostad J., Rukerd M.R.Z., Mahmoudvand S., Bashash D., Hashemi S.M.A., Nakhaie M., Zandi K. A comprehensive review of highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1: An imminent threat at doorstep. *Travel medicine and infectious disease*. 2023 - Vol. 55.
7. Cui P., Shi J., Wang C., Zhang Y., Xing X., Kong H., Yan C., Zeng X., Liu L., Tian G., Li C., Deng G., Chen H. Global dissemination of H5N1 influenza viruses bearing the clade 2.3.4.4b HA gene and biologic analysis of the ones detected in China. *Emerging microbes and infections*, 2022, 11(1): 1693-1704 (doi: 10.1080/22221751.2022.2088407).
8. Neumann G, Ozawa M, Kawaoka Y. Reverse genetics of influenza viruses. *Methods in molecular biology*, 2012, 865: 193-206 (doi: 10.1007/978-1-61779-621-0_12).
9. Zinyakov, N.; Andriyasov, A.; Zhestkov, P.; Kozlov, A.; Nikonova, Z.; Ovchinnikova, E.; Grekhneva, A.; Shcherbakova, L.; Andreychuk, D.; Sprygin, A.; et al. Analysis of Avian Influenza (H5N5) Viruses Isolated in the Southwestern European Part of the Russian Federation in 2020–2021. *Viruses* 2022, 14, 2725. <https://doi.org/10.3390/v14122725>.

REFERENCES

1. Borisov A.V. FGU "VGNKI" VNIIZH. Avian influenza vaccine is an inactivated emulsion vaccine. Patent No. RU2323741C2. Russia, 20062
2. Javadov E.D., Dmitrieva M.E. Avian influenza. St. Petersburg, 2011.
3. Javadov E.D., Khokhlachev O.F., Novikova O.B. [et al.] Study of the effectiveness of the drug Theotropin R⁺ against the main pathogens of bacterial diseases of birds. *International Bulletin of America*, 2020, 3:76-82 (doi:10.17238/issn2072-2419.2020.3.76).
4. Kiselev O.I., Kibalova L.M., Pokrovsky V.I. The state of development of a vaccine against the H5N1 influenza virus in the world and Russia. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*. 2006 (5): 28-38.
5. Tarlavin N.V., Veretennikov V.V., Jav-

- dov V.D. [et al.]. The government department coordinating the activities of this and other segments of the genome of influenza viruses is a variety of H5N1, H7N9, H9N2. Catherine Kuban, 2023, 4:3-5 (doi: 10.33861/2071-8020-2023-4-3-5).
6. Charostad J., Rukerd M.R.Z., Mahmudvand S., Bashash D., Hashemi S.M.A., Nahai M., Zandi K. Comprehensive overview of highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1: an immediate threat at hand. Travel medicine and infectious diseases. 2023 - Volume 55.
7. Cui P., Shi J., Wang S., Zhang Y., Xing H., Kong H., Yang S., Zeng H., Liu L., Tian G., Li S., Deng G., Chen H. Global spread of H5N1 influenza viruses carrying the HA gene of clade 2.3.4.4b, and biological analysis of the detected viruses. in China. Emerging germs and infections, 2022, 11(1): 1693-1704 (doi: 10.1080/22221751.2022.2088407).
8. Neiman G., Ozawa M., Kawaoka Y. Reverse genetics of influenza viruses. Methods in Molecular Biology, 2012, 865:193-206 (doi: 10.1007/978-1-61779-621-0_12).
9. Zinyakov, N.; Andriasov, A.; Zhestkov, P.; Kozlov, A.; Nikonova, Z.; Ovchinnikova, E.; Grekhneva, A.; Shcherbakova, L.; Andreychuk, D.; Sprygin, A.; and others . Analysis of avian influenza (H5N5) viruses isolated in the South-West of the European part of the Russian Federation in 2020-2021 Viruses 2022, 14, 2725. <https://doi.org/10.3390/v14122725> .

УДК: 639.3.091:616.98

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.54

РАЗРАБОТКА ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МАТЕРИАЛА ВИРУСА ВЕСЕННЕЙ ВИРЕМИИ КАРПА (CYPRINUS CARPIO) ПОЛИМЕРАЗНО-ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Сибгатуллова А.К.^{*1} – канд. ветеринар. наук, доц. каф. «Биологии, экологии, паразитологии, водных биоресурсов и аквакультуры» (ORCID 0000-0001-5944-3808); **Падило Л.П.**² – канд. биол. наук, доц. каф. «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» (ORCID 0000-0002-8402-6798); **Агольцов В.А.**² – д-р ветеринар. наук, проф. каф. «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» (ORCID 0000-0001-6991-7253); **Черных О.Ю.**^{3,4} – д-р ветеринар. наук, проф. каф. «Микробиология, эпизоотология и вирусология», директор (ORCID 0000-0001-8584-8251)

¹ ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»

² ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»

³ ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина»

⁴ ГБУ КК «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория»

* sibgatullova92@mail.ru

Ключевые слова: весенняя виремия карпа, вирус, карп, рыбы, праймеры, полимеразная цепная реакция.

Key words: spring viremia of carp, virus, carp, fish, primers, polymerase chain reaction.

Поступила: 20.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Весенняя виремия карпа является контагиозным заболеванием, поражающая карповых, в первую очередь обыкновенного карпа (*Cyprinus carpio*). Это заболевание является эндемичным в Европе, Америке и ряде азиатских стран, где оно вызывает значительную заболеваемость и смертность пораженных рыб. Международное эпизоотическое бюро включило весеннюю виремию карпа в список заболеваний, подлежащих уведомлению. Вирус выделяется в основном с калом и мочой клинически инфицированных рыб и самими носителями. Диагноз должен быть подтвержден нейтрализацией вируса или полимеразной цепной реакцией (ПЦР) и анализом нуклеотидной последовательности продуктов ПЦР. Статья посвящена разработке праймеров для полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени с целью обнаружения геном вируса весенней виремии карпа. Исследования проводились на базе ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория» в Краснодарском крае, г. Кропот-

кин. У карпов отбор проб осуществлялся путем взятия тканевого материала и экссудата из брюшной полости. Подбор праймеров осуществлялся на кафедре «Биологии, экологии, паразитологии, водных биоресурсов и аквакультуры» ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Материалом исследования служили 4 пробы органов от карповых рыб поступившие в ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория». Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени проводили в объеме реакционной смеси 25 мкл на 1 пробу РНК. Детекция исследуемых образцов осуществлялась на амплификаторе «CFX 96 Bio-Rad». Флуоресценцию измеряли по каналам на 5' конце с красителем FAM/green и на 3'-конце гасителем BHQ1. В результате проведения ПЦР-РВ были выявлены 6 кривых флуоресценции, вместе с двумя положительными контролями пересекающие линию Threshold. Полученные результаты проведенной реакции свидетельствуют об их хорошей воспроизводимости и достоверности. Созданные нами праймеры на весеннюю виремию карпа можно применять в научно-исследовательских и диагностических целях при проведении лабораторных исследований.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Весенняя виремия карпа (ВБК) – это высококонтагиозное вирусное заболевание, поражающее карповых рыб, в основном обыкновенного карпа *Cyprinus carpio*. Это одноцепочечный РНК вирус, относящийся к семейству *Rhabdoviridae* в отряде *Vesiculovirus* [1,2,5].

В настоящее время это заболевание является эндемичным в Европе, Америке и некоторых странах Азии, где оно вызывает значительную заболеваемость и смертность среди пораженных этим вирусом рыб [3,4,9].

Имеются сведения о спонтанных случаях заражения ВБК у других карповых рыб, включая золотую рыбку (*Carassius auratus*), кои (*Cyprinus carpio koi*), толстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*), карася (*Carassius carassius*), толстолобика (*Aristichthys nobilis*), белого амура (*Ctenopharyngodon idella*), линя (*Tinca tinca*) и орфа (*Leuciscus idus*) [9].

Заражение ВБК является крайне летальным для молоди рыб с уровнем смертности до 90% и, таким образом, наносит значительный экономический ущерб отрасли аквакультуры [7]. Было доказано, что ВБК поражает широкий спектр видов рыб, включая серебряного карпа, травяного карпа, золотого карпа и толстолобика. Также было доказано, что в экспериментальных условиях он поражает другие виды рыб, включая северную щуку, гуппи, данио-рерио и тыквочковых [5,11].

Международное эпизоотическое бюро

включило весеннюю виремию карпа (ВБК) в список заболеваний, подлежащих уведомлению. У пораженных рыб наблюдается вздутие живота, разрушение тканей почек, некроз селезенки и печени, что приводит к кровоизлияниям, нарушению водно-солевого баланса и ослаблению иммунного ответа [5].

Вспышки весенней виремии у карпа обычно происходят весной, когда температура воды начинает повышаться после холодной зимы. Исследования карпа показали, что при температуре воды выше 17 °C заражается мало взрослых особей, но молодь может заразиться даже при 22–23 °C. К другим факторам риска, связанным с заболеваемостью и смертностью, относятся плотность популяции, географическое положение, виды рыб и иммунный статус восприимчивых к болезням рыб [6,9].

Вирус весенней виремии может передаваться через воду, ил, предметы общего пользования и кровососущих паразитов пиявки и рачки рода *Argulus*, а также рыбоядные птицы, в желудке которых он сохраняется несколько часов и может выбрасываться с отрыгиваемой пищей. Инкубационный период инфекции колеблется от 7 до 30 дней в зависимости от температуры воды. Клинические признаки неспецифичны. У карпа наиболее частыми симптомами являются вздутие живота, экзофтальмия, воспаление или отек вентиляционного отверстия (часто с оставленными слизистыми фекальными цилиндрами), а также петехиальные кро-

воизлияния на коже, жабрах и глазах [7,10].

Диагноз обычно ставится на основании выделения вируса (из селезёнки или хвостовой почки) и определения титров антител в сыворотке крови. Диагноз должен быть подтверждён нейтрализацией вируса или полимеразной цепной реакцией (ПЦР) и анализом нуклеотидной последовательности продуктов ПЦР.

Лечение весенней виремии карпа не разработано.

После заражения сложно уничтожить вирус в заражённых прудах, и для его ликвидации может потребоваться уничтожение всей водной флоры и фауны [5].

Профилактика заболевания связана с обеспечением оптимальных гидрохимических и гидробиологических режимов содержания рыбы, соблюдение норм плотностей посадки, кормление сбалансированными кормами. Необходимо максимально понизить уровень стресса у рыбы при манипуляциях с ней, а также проведение регулярной чистки и дезинфекции рыбоводных сооружений и т.д. [6,8].

Цель работы – проведение молекулярно-генетического исследования возбудителя весенней виремии у карпа с использованием разработанными и оптимизированными нами праймерами для выявления РНК вируса *Rhabdoviruscarpio*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились на базе ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория» в Краснодарском крае, г. Кропоткин.

У карпов отбор проб осуществлялся путем взятия тканевого материала и экссудата из брюшной полости.

Подбор праймеров осуществлялся на кафедре «Биологии, экологии, паразитологии, водных биоресурсов и аквакультуры» ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Нуклеотидная последовательность праймеров представлена в таблице 1. Материалом исследования служили 4 пробы внутренних органов от карповых рыб поступившие в ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория».

Подбор праймеров осуществлялся при помощи программы Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> 23.03.2025).

Перед проведением ПЦР в режиме реального времени все реактивы были разморожены, а затем центрифугированы несколько секунд на низкой скорости. Все поступившие образцы подвергались гомогенизации с последующей экстракцией РНК. Выделение РНК осуществляли из патматериала с помощью

набора реактивов с сорбентом «Рибосорб 100» («ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Детекция исследуемых образцов осуществлялась на амплификаторе «CFX 96 Touch» («Bio-Rad» США). Для постановки ПЦР реакции использовали тест-систему для выявления вируса весенней виремии карпов (SVCV) методом ПЦР в режиме реального времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для идентификации вируса весенней виремии карпа и в ПЦР в режиме реального времени использовали праймеры, комплиментарные определенным участкам гена нуклеопротеина G: GF (прямой) и GR (обратный).

Гликопротеин (G-белок) ВВК является единственным белком на поверхности вириона, который является наиболее важным вирусным антигенным белком, определяющим инфекционные и серологические свойства вируса [8].

Гликопротеин (белок G) вируса ВВК образует на поверхности вируса тримерные пепломеры или шипы, которые связываются с клеточными рецепторами и усиливают вирусный эндоцитоз и слияние мембран [8].

В процессе конструирования дизайна олигонуклеотидных праймеров основными параметрами были следующие: 1) степень гомологии праймеров и комплементарность выбранной области; 2) отсутствие самокомплементарности участков внутри самих праймеров и комплементарности друг другу. Следует учитывать то, чтобы не создавались вторичные структу-

ры праймеров, «димеры», которые участвуют в блокировке реакции или приводят к возникновению неспецифической амплификации; 3) Близость значений температуры плавления праймеров (разница в 3° - 5° C). Данный показатель является ключевым параметром. Повышение температуры отжига может привести к отсутствию синтеза ампликона и, как следствие, ложноотрицательному результату ПЦР, а снижение - увеличивает возможность возникновения неспецифических продуктов, что усложняет проведения ПЦР анализа и ведет к интерпретации их как ложноположительных.

Для постановки полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени был использован зонд для гена G (5'-[FAM] ATGAAGARGAGTAAACKGCCTG-CAACAGA[BHQ1]-3') [12].

Специфичность праймеров определяли с использованием поисковой системы BLAST в режиме онлайн. Нуклеотидные последовательности праймеров проверяли на наличие гомологии со всеми известными нуклеотидными последовательностями в международной базе данных GenBank.

Были подобраны и оптимизированы температурно-временные режимы условия проведения ПЦР-РВ. Перед началом постановки ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) все реактивы были разморожены, а затем были центрифугированы несколько секунд на низкоскоростной центрифуге.

Первый этап работы состоял во внесении комплектов реагентов в пробирку для постановки ПЦР-РВ. Реакционную смесь готовили из расчета: на каждый образец 10 мкл дистиллированной воды, 5×буфер для ПЦР – 5 мкл; смесь специфических олигонуклеотидных праймеров (10 пкМ каждого) – 2 мкл; зонд флуоресцирующий – 0,5 мкл; раствор MgCl₂ (25 mM) – 1 мкл; смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов dNTP (10 mM) – 1 мкл; Taq-полимераза (5 ед/мкл) – 0,5 мкл, РНК исследуемого образца ВВК – 5 мкл.

Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени проводили в

объеме реакционной смеси 25 мкл на 1 пробу РНК (20 мкл реакционной смеси и 5 мкл РНК пробы). Смесь реагентов готовили с учетом еще двух контрольных образцов (ПКО и ОКО).

В микропробирки с реагентами для исследуемых образцов вносили по 20 мкл реакционной смеси и по 5 мкл РНК, а в микропробирку для ПКО внесли РНК коллекционного штамма. В отрицательный контрольный образец (ОКО) вносили по 20 мкл реакционной смеси.

Положительный контроль выделения (ПКВ) был взят из тест-системы для выявления вируса весенней виремии карпов (SVCV) методом ПЦР в режиме реального времени, а в качестве отрицательного контроля применяли бидистиллированную воду.

Измерение флуоресценции проводили по каналу FAM/Green, позволяющий обнаружить фрагмент ДНК карпа (*Cyprinus carpio*). Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени проводили в амплификаторе «CFX 96 Touch» («Bio-Rad» США).

Пробирки с реакционной смесью устанавливали в амплификатор для постановки ПЦР в режиме реального времени. В программе указывали расположение и характеристику проб, выбирали рабочий краситель (FAM) и (BHQ1). Далее устанавливали в программе температурно-временной профиль реакции. Программирование амплификатора осуществлялось согласно инструкции производителя.

Следующим этапом работы являлась постановка полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Для постановки ПЦР в режиме реального времени был использован температурно-временной профиль (таблица 2).

Детекция исследуемых образцов осуществлялась на амплификаторе «CFX 96 Bio-Rad (США)». Флуоресценцию измеряли по каналам на 5' конце с красителем FAM/green и на 3' конце с красителем BHQ1.

Таблица 1 – Нуклеотидные последовательности праймеров

Название гена	Нуклеотидная последовательность	Длина фрагмента п.о.	Позиция в геноме
G (F)	5`TAGCCCACCCCAACCATTTC3`	20	2899-2918
G (R)	5`CGGAGACCAACGTTCCATCA -3`	20	3909-3928

Таблица 2 – Температурно-временной режим проведения ПЦР-РВ

Процесс	Параметр		
	Температура, °C	Время	Цикл
Начальная денатурация	95° C	2 мин	1
Денатурация	95° C	20 сек.	30
Отжиг	58° C	20 сек.	
Элонгация	72° C	25 сек.	

Пересечение кривой флуоресценции линии порогового цикла (Ct), свидетельствует о наличии генома в образцах весенней виiremии карпа, чем ниже показатель (Ct), тем больше концентрация генома вируса ВВК в исследуемых образцах. Отсутствие пересечения кривой флуоресценции линии (Ct) свидетельствует от отсутствия генома вируса ВВК в тестируемых материалах.

Интерпретацию результатов ПЦР-РВ осуществляли на основании наличия или отсутствия пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией Threshold, что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла (Ct), рассчитываемого программным обеспечением амплификатора. Результат считали

положительным, если кривая флуоресценции каждого образца имела «сигмовидную» форму и пересекала пороговую линию Threshold.

В результате проведения ПЦР-РВ были выявлены 6 кривых флуоресценции, вместе с двумя положительными контролями пересекающие линию Threshold. Полученные результаты проведенной реакции свидетельствуют об их хорошей воспроизводимости и достоверности.

Разработанные нами праймеры могут быть использованы для обнаружения РНК вируса весенней виiremии карпа в образцах биологического материала, с целью проведения клинической и лабораторной диагностики, а также научно-исследовательских работ в области ветеринарии.

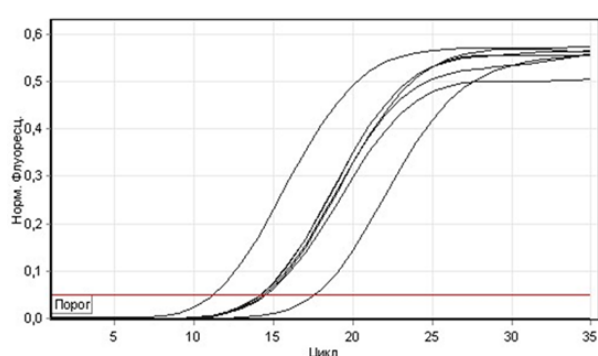


Рисунок 1 – Представлены кривые накопления флуоресцентного сигнала по каждому из заданных образцов по каналам FAM и BHQ1.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом в результате проведенного исследования с использованием разработанных нами олигонуклеотидных праймеров с помощью ПЦР в режиме реального времени удалось выявить РНК вируса весенней виремии карпа.

Разработанные праймеры для выявления РНК вируса весенней виремии карпа свидетельствуют о высокой аналитической характеристике. Олигонуклеотидные праймеры обладают высокой специфичностью и чувствительностью. Созданные нами праймеры на весеннюю виремию карпа можно применять в научно-исследовательских и диагностических целях при проведении лабораторных исследований.

DEVELOPMENT OF OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS FOR IDENTIFICATION OF THE SPRING CARP VIREMIA VIRUS (*CYPRINUS CARPIO*) BY POLYMERASE CHAIN REACTION

Sibgatullova A.K.^{1*} – Ph.D. of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Biology, Ecology, Parasitology, Aquatic Bioresources and Aquaculture (ORCID 0000-0001-5944-3808); **Padilo L.P.**² – Ph.D. of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Animal Diseases and Veterinary and Sanitary Expertise, (ORCID /0000-0002-8402-6798); **Agoltsov V.A.**² – Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Animal Diseases and Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0001-6991-7253); **Chernykh O.Yu.**^{3,4} – Doctor of Biological Sciences, Professor, Director Laboratory (ORCID 0000-0001-8584-8251)

¹ Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin

² Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov

³ Kuban State Agrarian University named after I.T. Trublin

⁴ GBU CC "Kropotkin regional Veterinary Laboratory"

*sibgatullova92@mail.ru

ABSTRACT

Spring carp viremia is a contagious disease affecting cyprinids, primarily the common carp (*Cyprinus carpio*). The disease is endemic in Europe, America and several Asian countries, where it causes significant morbidity and mortality in affected fish. The Office International des Epizooties (OIE) has included spring carp viremia (SCV) in the list of notifiable diseases. The virus is excreted mainly in the faeces and urine of clinically infected fish and by the carriers themselves. Diagnosis should be confirmed by virus neutralization or polymerase chain reaction (PCR) and nucleotide sequence analysis of the PCR products. There is no treatment for spring carp viremia. This article is devoted to the development of primers for real-time polymerase chain reaction to detect the genome of the spring carp viremia virus. The studies were conducted at the Kropotkin Regional Veterinary Laboratory in Kropotkin, Krasnodar krai. Carp samples were collected by taking tissue material and exudate from the abdominal cavity. Primers were selected at the Department of Biology, Ecology, Parasitology, Aquatic Bioresources and Aquaculture of the Ulyanovsk State Agrarian University. The study material included 4 organ samples from carp fish received by the Kropotkin Regional Veterinary Laboratory. Real-time polymerase chain reaction was performed in a reaction mixture volume of 25 µl per 1 RNA sample. The samples under study were detected using a CFX 96 Bio-Rad (USA) amplifier. Fluorescence was measured by channels at the 5' ends with FAM/green dye and at the 3' ends with BHQ1 quencher. As a result of the RT-PCR, 6 fluorescence curves were identified, together with two positive controls, crossing the Threshold line. The values of the "Ct" indicator ranged from 13 to 35. The obtained results of the reaction indicate their good reproducibility and reliability.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Барышникова, Е. И. Диагностика весенней виремии карпа методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени / Е. И. Барышникова, М. Е. Сенина, Ю. П. Щелкунова //

Ветеринария. – 2022. – № 11. – С. 66-72.

2. Завьялова Е.А., Дрошнев А.Е., Булина К.Ю., Карпова М.А. Мониторинг эпизоотической ситуации по болезням рыб: факты и перспективы. Труды ВИЭВ. 2018; 80 (1):182 – 189.

3. Грищенко, Л. И. Патолого-морфологические изменения и патогенез при весенней виремии карпов / Л. И. Грищенко // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2015. – № 1. – С. 23-25.

4. Пичуева, А. А. Вспышка весенней виремии карповых рыб в Приволжском федеральном округе РФ в 2014 году / А. А. Пичуева, М. И. Доронин // Ветеринария сегодня. – 2015. – № 4(15). – С. 66-70.

5. Ahne W., Spring viremia of carp (SVC) / W. Ahne, H.V. Björklund, S. Essbauer [et al.] // Dis.Aquat. Organ. – 2002. - № 52. – P. 261–272.

6. Грищенко Л.И., Акбаев М. Ш. Болезни рыб и основы рыбоводства. М.: Колос, 2013. – С. 456.

7. Miller O. Phylogenetic analysis of spring viremia of carp virus reveals distinct subgroups with common origins for recent isolates in North America and the UK [et al.] O. Miller, F.G. Fuller, Gebreyes W.A.// Diseases of Aquatic Organisms. – 2007. – Vol. 76. P. 193-204.

8. Garcia-Valtanen P. Autophagy-inducing peptides from mammalian VSV and fish VHSV rhabdoviral G glycoproteins (G) as models for the development of new therapeutic molecules. / P. García-Valtanen, M. M. Ortega-Villaizán, A. Martínez-López. [et al.]// Autophagy. -2014. – Vol.10. P.1666–1680.

9. Usama Ashraf, Spring viraemia of carp virus: recent advances/ Usama Ashraf, Lu Yuanan , Lin Li [et al.]// Journal of General Virology. – 2016. – Vol. 97. P. 1037–1051.

10. Zhang Q., Gui J. F. Virus genomes and virus–host interactions in aquaculture animals // Sci China Life Sci – 2015. – 58. P. 156–169.

11. Walker P., Winton J. «Emerging viral diseases of fish and shrimp»/ Walker P., Winton J. // Veterinary Research. – 2010. – 41 - 51.

12. Yue, Z. Development of a sensitive and quantitative assay for spring viremia of carp virus based on real-time RT-PCR./ Yue Z., Teng, Y., Liang, C., Xie, X. [et al.]// J. Virol. Methods. – 2008. – P. 43-48.

REFERENCES

1. Baryshnikova, E. I. Diagnostics of spring viremia of carp by the RT-PCR method in real time / E. I. Baryshnikova, M. E. Senina, Yu. P. Shchelkunova // Veterinary Science. - 2022. - No. 11. - P. 66-72.

2. Завьялова Е.А., Дрошнев А.Е., Булина К.Ю., Карпова М.А. Мониторинг эпизоотической ситуации по болезням рыб: факты и перспективы. Труды ВИЭВ. 2018; 80 (1):182 – 189.

3. Grishchenko, L. I. Pathological and morphological changes and pathogenesis in spring viremia of carps / L. I. Grishchenko // Russian Veterinary Journal. Farm animals. – 2015. – No. 1. – P. 23-25.

4. Pichueva, A. A. Outbreak of spring viremia of carp fish in the Volga Federal District of the Russian Federation in 2014 / A. A. Pichueva, M. I. Doronin // Veterinary Science Today. – 2015. – No. 4(15). – P. 66-70.

5. Ahne W., Spring viremia of carp (SVC) / W. Ahne, H.V. Björklund, S. Essbauer [et al.] // Dis.Aquat. Organ. – 2002. - № 52. – P. 261–272.

6. Грищенко Л.И., Акбаев М.Ш. Болезни рыб и основы рыбоводства. М.: Колос, 2013. – С. 456.

7. Miller O. Phylogenetic analysis of spring viremia of carp virus reveals distinct subgroups with common origins for recent isolates in North America and the UK [et al.] O. Miller, F.G. Fuller, Gebreyes W.A.// Diseases of Aquatic Organisms. – 2007. – Vol. 76. P. 193-204.

8. Garcia-Valtanen P. Autophagy-inducing peptides from mammalian VSV and fish VHSV rhabdoviral G glycoproteins (G) as models for the development of new therapeutic molecules / P. García-Valtanen, M. M. Ortega-Villaizán, A. Martínez-López. [et al.]// Autophagy. -2014. – Vol.10. P.1666–1680.

9. Usama Ashraf, Spring viraemia of carp virus: recent advances/ Usama Ashraf, Lu

- Yuanan , Lin Li [et al.]// Journal of General Virology. – 2016. – Vol. 97. P. 1037–1051.
- 10.Zhang Q., Gui J. F. Virus genomes and virus–host interactions in aquaculture animals // Sci China Life Sci – 2015. – 58. P. 156–169.
- 11.Walker P., Winton J. «Emerging viral diseases of fish and shrimp»/ Walker P., Winton J. // Veterinary Research. – 2010. – 41 - 51.

УДК: 619: 616. 98: 579-084

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.62

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ И АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ И БОРЬБЫ С БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Гусев А.А.¹ – д-р ветеринар. наук, член-корреспондент РАН, проф., советник директора; Авилов В.М.² – д-р ветеринар. наук, член-корреспондент РАН, проф.; Стекольников А.А.^{3*} – д-р ветеринар. наук, академик РАН, проф. каф. общей частой и оперативной хирургии; Енгашев С.В.⁴ – д-р ветеринар. наук, академик РАН, проф., генеральный директор

¹ ООО «Ветпоставка»

² ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный
агротехнологический университет»

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

⁴ ООО «НВЦ Агроветзащита»

*stekolnikov-anatolii@mail.ru

Ключевые слова: антибиотики, антибиотикоустойчивость, инфекции, бактерии, иммунитет, вакцины, пробиотики, бактериофаги, иммуностимуляторы, резистентность.

Key words: antibiotics, antibiotic resistance, infections, bacteria, immunity, vaccines, probiotics, bacteriophages, immunostimulants, resistance.

Поступила: 25.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Проблемы возникновения, распространения и эволюции резистентности микробов к антибиотикам находятся в центре внимания клинической микробиологии. Антибиотикорезистентность расценивают как одну из значимых угроз для человечества и животноводства в XXI веке. Это связано с тем, что на фоне замедления разработки новых антимикробных препаратов наблюдается повсеместный рост резистентности к ним и появление панрезистентных штаммов микробов. В настоящее время проблема микробной резистентности бактерий к антибиотикам приняла угрожающие масштабы, что приводит к снижению эффективности терапии бактериальных инфекций и необходимости применения более дорогостоящих препаратов. Антибиотикоустойчивость бактериальных штаммов возникла в результате неконтролируемого, а в ряде случаев необоснованного применения антибиотиков в сельском хозяйстве и медицине. Привычные бактериальные инфекции в будущем могут стать неизлечимыми, в следствие чего возникнут массовые болезни среди населения и животных. Серьезность сложившейся ситуации побудила Всемирную организацию здравоохранения (ВОЗ) составить перечень антибиотикорезистентных возбудителей, распространение которых вызывает наибольшую угрозу. Указанная инициатива ВОЗ имела целью привлечь внимание всех заинтересованных сторон, включая исследовательские

организации, фармацевтические компании и правительственные структуры, к решению проблемы нарастающей резистентности микробов к антибиотикам. Решение проблемы может быть найдено в разработке четких, научно обоснованных правил применения антибиотиков и поиска альтернативных препаратов. В статье представлен обзор основных причин развития антибиотикоустойчивости микроорганизмов, а также краткие сведения о наиболее интересных подходах к созданию новых антибактериальных средств и проанализированы наиболее перспективные из них (вакцины, пробиотики, фаги, иммуностимуляторы, технологическая профилактика и др.).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Инфекционные болезни во все времена были главными врагами человека. История знает множество примеров опустошительных последствий чумы, холеры, тифа, дизентерии, кори. Достаточно вспомнить, что упадок Древней Греции и Рима связан не столько с войнами, сколько с чудовищными эпидемиями чумы, уничтожившими большую часть населения. В XIV веке чума погубила треть населения Европы. Болезни, вызываемые различными бактериями, уносили миллионы человеческих жизней и вызывали массовую гибель животных. Революционным событием в лечении и профилактике бактериальных инфекций стало открытие в начале 20 века А. Флемингом пенициллина. Пенициллин стал известен на всех континентах, спас миллионы человеческих жизней и предотвратил массовую гибель животных. Открытие Флеминга положило начало совершенно новому научному направлению, знаменовавшему новую эру в биологии и медицине – эру антибиотиков. Появление антибиотиков знаменовало колоссальный прорыв в борьбе с бактериальными инфекциями в медицине и сельском хозяйстве. Однако, несмотря на большое количество имеющихся антибиотиков, инфекционные бактериальные болезни остаются до сих пор одной из главных причин патологии среди людей и животных, поэтому антибиотики принадлежат к числу наиболее назначаемых лекарств во всем мире. Антибиотики являются важным компонентом в профилактике и лечении бактериальных заболеваний в медицине и ветеринарии. Их рациональное и обоснованное применение в животноводстве и птицеводстве во многом определяет эффектив-

ность проводимых мероприятий, что повышает экономические показатели хозяйственных предприятий. В настоящее время в России используется около 30 различных групп антибиотиков, а число препаратов приближается к 200. Однако, несмотря на широкий ряд различных антибиотиков с учётом самых новейших, эффективность их применения, судя по росту бактериальных заболеваний, оценивается неоднозначно.

В последние десятилетия стали регулярно появляться сведения о неэффективности применения некоторых антибиотиков в медицине и ветеринарии. Всё больше основных лекарственных средств перестают действовать на бактерии. Антибиотикоустойчивые бактерии с лекарственной устойчивостью стремительно распространяются по всему миру, что ставит под угрозу достижения современной медицины и ветеринарии. Возвращение в доантибиотиковую эру может привести к неизлечимости и неконтролируемому росту многих инфекционных болезней. Возникшая проблема резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам в настоящее время является одной из самых актуальных проблем в терапии бактериальных заболеваний и угроз для человечества в XXI веке [3, 16]. Значимость данной проблемы определяется тем, что она затрагивает не только медицину, но и ветеринарию, а также общество в целом. По сообщению президента Общества инфекционной терапии Матиаса Плетца, к 2050 году от инфекций, вызванных антибиотикорезистентными микроорганизмами, могут умереть 39 миллионов человек по всему миру. Уже сейчас в одном лишь Европейском Союзе ежегодно погибает 35 тысяч человек от ин-

фекций, вызванных устойчивыми патогенами. Нехватка новых антибиотиков и недостаточное финансирование соответствующих исследований способствуют усугублению кризиса. С 2017 года было одобрено всего лишь 12 новых антибиотиков. Фармацевтические компании не заинтересованы в производстве новых антибиотиков, так как препарат становится невостребованным в связи с быстро формирующейся антибиотикорезистентностью. Финансовые затраты на разработку и продвижение препарата на рынок сбыта не всегда оправданы. Не смотря на существующую проблему, за последние годы использование антибиотиков не только не остановилось, но даже возросло. Это связано с тем, что на фоне замедления разработки новых антимикробных препаратов наблюдается повсеместный рост резистентности к ним и появление панрезистентных штаммов микробов для борьбы, с которыми применяют комплекс антибиотиков и их повышенные дозы [14].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Нами был проведен анализ современных возможностей по снижению антибиотикорезистентности и альтернативные методы профилактики и борьбы с бактериальными инфекциями, а также существующие нормативно-правовые документы, которые регулируют данное направление.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Широкое распространение резистентных микроорганизмов, в животноводческих и птицеводческих комплексах сопровождается большими экономическими потерями. Серьезность сложившейся ситуации побудила Всемирную организацию здравоохранения (ВОЗ) составить перечень антибиотикорезистентных возбудителей, распространение которых вызывает наибольшую угрозу. В этот список, опубликованный в феврале 2017 г., вошли 12 видов бактерий, в том числе устойчивые к карбапенемам представители семейства Enterobacteriaceae, карбапенемрезистентные *Acinetobacter* spp. и

Pseudomonas spp., а также нечувствительные к пенициллину *Streptococcus pneumoniae*. По прогнозам ВОЗ, уже через 10–20 лет большинство микроорганизмов приобретут устойчивость к существующим антибиотикам. Международное сообщество признало резистентность как одну из глобальных проблем, которая наносит существенный урон экологическому равновесию планеты и здоровью человечества. Если раньше антибиотики спасали жизни людей, животных и птиц, то сегодня они теряют свою эффективность.

Появление устойчивости к антибиотикам – это естественный биологический феномен, отражающий в действии эволюционные законы изменчивости и естественного отбора с той лишь разницей, что в качестве фактора «отбора» выступает деятельность человека, а именно нерациональное применение антибиотиков. Гены резистентности к антибиотикам, как и сами антибиотики, существуют с древних времен [13].

Устойчивость микроорганизмов различают двух типов:

- Первичную (видовую), обусловленную отсутствием мишени для лекарственного вещества, непроницаемости мембраны клетки, ферментативной активностью возбудителя;

- Вторичную (приобретенную), - бактерия может, изменить клеточную оболочку, которая не пропустит антибиотик в свою внутреннюю среду и может «научиться» энзиматически его разрушать. Это естественное явление, которое нельзя полностью ликвидировать, либо избежать. В таких условиях антибиотик не влияет на более стойкие особи микробов. Более того, он улучшает условия для их размножения путём подавления конкурирующих бактерий антибиотиками. В результате, через некоторое время после лечения у человека и животных обнаруживают рецидив болезни, но уже вызванный возбудителем, устойчивым к антибиотикам.

В профессиональной литературе стал всё чаще появляться термин

«супербактерии». Это бактериальные микроорганизмы, обладающие устойчивостью ко всем известным антибиотикам. Устойчивость бактерий к антибиотикам развивается вследствие мутаций или в результате приобретения генов резистентности от других бактерий, уже имеющих устойчивость. Оказалось, что супербактерии отличаются от остальных наличие фермента металло- β -лактомазы -1 Нью-Дели, который обеспечивает панрезистентность т.е. ни один антибиотик не способен воздействовать на этот микроорганизм ни бактерицидно, ни бактериостатически. Вероятность передачи гена устойчивости от бактерии к бактерии велика, так как он обнаруживается в плазмидах - дополнительных носителях генетической информации. Генетический материал плазмид передаётся между бактериями горизонтально, без деления, по цитоплазматическим мостикам, по которым из одной клетки в другую транспортируются кольцевые РНК (плазмиды). Разновидность таких бактерий становится всё больше. Это в первую очередь возбудители анаэробной и аэробной инфекции - клостридии, золотистый стафилококк, клебсиеллы, псевдомонады, ацинобактер, а также самый частый патоген при воспалительных заболеваниях - кишечная палочка. Подробно о механизмах бактериальной резистентности к антибиотикам можно ознакомиться по работам [8, 12, 15].

Главная причина развития резистентности бактерий к антибиотикам в ветеринарии это повсеместное применение в кормах противомикробных стимуляторов роста животных и птиц. Первопричиной послужили исследования, показавшие положительное влияние пенициллина на здоровье и ускоренные темпы роста животных. Начиная с 50-х годов прошлого века антибиотики стали широко применяться с кормами, как стимуляторы роста [21].

Всемирная организация здравоохранения пришла к заключению, что ненадлежащее применение антибиотиков в животноводстве является основополагаю-

щим фактором, способствующим появлению и распространению антибиотикоустойчивых микроорганизмов, и что необходимо ограничить использование антибиотиков в качестве стимуляторов роста в кормах животных. С 2006 г. во всех странах Евросоюза полностью исключено применение кормовых антибиотиков. В ряде стран ограничения по применению кормовых антибиотиков распространяется не на все антибиотики, а на некоторые из них. В России кормовые антибиотики применяются в период выращивания животных, но за несколько недель до забоя животных их исключают из рациона. Во многих хозяйствах кормовые антибиотики используют не только как стимуляторы роста, но как мера, направленная на профилактику патогенных бактерий, циркулирующих среди животноводческих и особенно птицеводческих ферм. В этом случае, антибиотики вносятся в дозах, в несколько раз превышающих дозы для стимуляции роста. Это позволяет прикрыть зоотехнические и ветеринарно-санитарные недостатки, существующие на фермах. Во многих странах приняты государственные программы по борьбе с антибиотикорезистентностью.

В развитии антибиотикорезистентности большая роль отводится неправильному использованию антибиотиков и несоблюдению доз и кратности приема. При лечении антибиотиками следует строго соблюдать дозу и длительность применения для поддержания постоянной концентрации препарата в крови. Если неправильно подобран антибиотик, его дозировка, кратность, либо нарушена длительность приёма, то бактерии не гибнут, а мутируют с образованием устойчивых штаммов. В связи с тем, что лабораторный анализ по определению возбудителя заболевания и его чувствительности к антибиотикам занимает около трёх и более дней, а лечение нужно начинать немедленно, то препараты часто назначаются без проведения необходимых исследований. В этих случаях ветврач использует антибиотики, основываясь на условиях возникновения инфек-

ции, особенностях клинической картины и эффективности применения антибиотиков при предыдущих вспышках заболевания. Это объясняет причину использования антибиотиков при возникновении заболевания без определения чувствительности бактерий, вызвавших заболевание к применяемым препаратам, либо против заболеваний неинфекционной природы или вирусной этиологии, что содействует появлению устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий. При лечении возникшего инфекционного заболевания врачу зачастую приходится действовать эмпирически и назначать тот или иной антибиотик практически наугад. К сожалению, во многих хозяйствах при бактериальном заболевании роль ветврача сводится, по существу, к опытам над животными с целью подбора тех антибиотиков, которые будут эффективными. Распространение антибиотикоустойчивых бактерий происходит через перемещение инфицированных животных и кормов, а также через отходы жизнедеятельности человека, животных и фармацевтической промышленности [19].

Вышеперечисленные причины способствуют выработке резистентных штаммов микроорганизмов, что, в значительной степени, снижает эффективность антибактериальной терапии.

Какие есть пути выхода из сложившейся ситуации? Что необходимо предпринять, чтобы предупредить возникновение и развитие антибиотикоустойчивости?

Перспективы антибактериальной терапии связаны не столько с новыми антибиотиками, сколько с оптимизацией применения имеющихся препаратов. Очень важно в борьбе с проблемой антибиотикоустойчивости точное и полное соблюдение правил назначения антибиотиков при лечении. Применение антибактериальных препаратов имеет ряд особенностей, которые следует учитывать для эффективной профилактики и лечения бактериальных заболеваний. Антибактериальная профилактика и терапия инфекционных заболеваний может быть

эффективной только с учётом правильно поставленного диагноза, определения ведущего патогена, выбора эффективных антибактериальных препаратов, назначение дозировки и курса применения препарата. Для грамотного и целенаправленного применения антибиотиков необходимо разработка простых и доступных в исполнении методов диагностики бактериальных инфекций и определения антибиотикочувствительности вызвавших заболевание возбудителей. Приведенные причины являются следствием слабой микробиологической диагностики в ветеринарии. Ветеринарные лаборатории научились правильно и быстро диагностировать вирусные заболевания, чего нельзя сказать о диагностике бактериальных инфекций. Здесь нужны новые, более совершенные методы диагностики.

На перспективы антибактериальной терапии можно смотреть достаточно оптимистично, ветеринария и медицина не останутся безоружными перед инфекциями. Имеющийся арсенал антибиотиков должен использоваться как можно более обоснованно и эффективно. Самый верный путь – тотальное изменение системы применения антибиотиков, ужесточение контроля, резкое ограничение доступности препаратов, запрет на не лечебное использование антибиотиков в сельском хозяйстве. Правительство России уделяет серьёзное внимание решению проблемы антимикробной резистентности. В соответствии с положением «Стратегии национальной безопасности Российской Федерации» утверждённой Президентом Российской Федерации 31 декабря 2015 г. № 683, а также с учётом Декларации Генеральной ассамблеи Организации объединённых наций от 5 октября 2016 года и резолюции Всемирной организации здравоохранения (от 26 мая 2015 года) разработана «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации до 2030 года», которая утверждена Правительством 25.09.2017 г №2045-р. Разработанная стратегия является документом, который определяет государственную

политику по предупреждению распространения устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам и служит основой для организации деятельности и взаимодействия органов государственной власти и иных организаций по данной проблеме. Для выполнения этой стратегии был разработан План мероприятий на 2019-2024 годы утверждённый Правительством 30.03. №604» План мероприятий на 2019-2024 г. по реализации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 г утверждённый Распоряжением Правительства РФ от 25.09 2017 №2045-р», а в настоящее время рассмотрен аналогичный «План мероприятий на 2025-2030гг утверждённый Правительства 16.08. 2024 г № 2214-р. В плане предусмотрен большой комплекс мер по предотвращению антимикробной резистентности который необходимо осуществить в здравоохранении и в сельском хозяйстве. В части мер в области ветеринарии предусмотрено:

- обеспечить системный мониторинг распространения антимикробной резистентности и дальнейшее изучение механизмов её возникновения;

- разработка противомикробных препаратов и альтернативных методов и технологий для профилактики инфекционных болезней;

- совершенствование и разработка новых доступных экспресс методов диагностики бактериальных инфекций, вызванных антибиотикоустойчивыми возбудителями болезни;

- повышения уровня профессиональной подготовки специалистов в области ветеринарии с учётом дополнительных профессиональных программ с включением в них вопросов об антимикробной резистентности и по её сдерживанию;

- осуществление широкой просветительской работы среди ветеринарных специалистов и владельцев животных о вреде бесконтрольного применения антибиотиков;

- введение административной ответ-

ственности за нарушение при назначении лекарственных препаратов для ветеринарного применения.

Проблема антибиотикорезистентности, побочные эффекты антибактериальной терапии, нарушения микробиоценоза кишечника, аллергические реакции и ряд других причин побуждают исследователей активно проводить поиск новых путей лечения инфекционных заболеваний. В ближайшее время перспективными препаратами альтернативными антибиотикам станут: вакцины (для профилактики); пробиотики (для лечения и профилактики); бактериофаги (для лечения); иммуномодуляторы (для повышения резистентности организма), а также технологии правильного содержания животных.

Вакцины.

С появлением вакцин началась новая эра борьбы с инфекциями вирусной и бактериальной этиологии. Первое эффективное направление в борьбе с инфекционными заболеваниями стало возможным благодаря двум великим ученым Дженнеру (вакцина против оспы) и Луи Пастеру (вакцина против бешенства, сибирской язвы и др.). В состав вакцин входят ослабленные либо убитые микроорганизмы или их отдельные компоненты. Разработка новых вакцин пошла полным ходом в начале XX века, когда ещё не появились антибиотики и вакцины были практически единственным эффективным методом лечения инфекционных заболеваний людей и животных. В этот период были разработаны методы стабильной аттенуации (ослабления) микроорганизмов, и активации, была открыта возможность использовать для вакцинации обезвреженные бактериальные токсины, что исключало риск развития болезни. С тех пор появилось более 100 различных вакцин в медицине и несколько сот вакцин в ветеринарии, которые защищают от инфекций, вызываемых бактериями, вирусами, простейшими. Вакцины позволили человечеству достичь невероятных результатов в борьбе с инфекциями. В мире полностью

ликвидирована натуральная оспа – заболевание, ежегодно уносившее жизни миллионов человек, чума КРС. Практически исчезла классическая чума свиней, паратуберкулёз КРС, оспа, и др. инфекции. В тысячи раз снижена заболеваемость полиомиелитом, продолжается глобальная ликвидация кори. Различные исследования продемонстрировали, что использование бактериальных, а также вирусных вакцин в популяциях животных может привести к значительному сокращению потребления антибиотиков [20]. Вакцины могут снизить угрозу развития устойчивости к противомикробным препаратам путем предотвращения инфекций и, таким образом, уменьшить необходимость использования антибиотиков для лечения первичных бактериальных инфекций или вторичных бактериальных инфекций, следующих за вирусными или паразитарными инфекциями и уменьшить частоту обмена генами устойчивости [17].

Идеальная вакцина должна быть безопасной, эффективной, обеспечивать надёжную и продолжительную защиту от широкого спектра патогенов. Однако, многие из доступных в настоящее время ветеринарных вакцин имеют ограничения, которые снижают их эффективность в предотвращении заболеваний. Некоторые ветеринарные вакцины слабо эффективны, реактогенны и неудобны в использовании. В отдельных случаях, вакцинный штамм может значительно отличаться по антигенной структуре от полевого штамма. В других случаях защита после вакцинации может быть кратковременной и требовать частых повторных вакцинаций. Потенциально серьёзные побочные эффекты характерны для некоторых живых вакцин, которые могут приводить к абортam, порокам развития и смерти, а также опасны из-за риска возврата к вирулентным штаммам дикого типа.

Разработка более эффективных и безопасных вакцин осложняется множеством факторов, таких как получение высокоочищенных концентрированных антигенов, снижение высокой реактогенности, а

также предъявления значительных дополнительных нормативных требований для регистрации живых и генетически модифицированных живых вакцин [18].

Стратегия разработки новых вакцин должна быть направлена на удовлетворение потребностей животноводческой отрасли и учитывать такие вопросы, как эффективность, продолжительность создаваемой защиты и отсутствие негативного влияния на здоровье животных. Ассоциированные вакцины, нацеленные на несколько патогенов, являются более перспективными для преодоления узкого спектра моновалентных вакцин, который, как правило, намного меньше, чем спектр действия ассоциированных препаратов. В этом плане немаловажное значение имеет определение круга заболеваний, для лечения которых вакцины могут снизить использование антибиотиков. Разработка новых безопасных и эффективных адъювантов или комбинации вакцин с иммуномодуляторами может также быть многообещающей стратегией замещения антибиотиков.

Таким образом, вакцины являются многообещающими альтернативами, которые могут снизить потребность в использовании антибиотиков.

Пробиотики.

Одним из направлений по замещению антибиотиков является использование для борьбы с желудочно-кишечными инфекциями пробиотиков. “Пробиотики” в современном понимании – это бактериальные препараты из живых микробных культур, предназначенные для коррекции микрофлоры хозяина и лечения ряда заболеваний. Основоположителем концепции пробиотиков является И.И. Мечников, который еще в 1903 году предложил практическое использование микробных культур-антагонистов для борьбы с болезнетворными бактериями. Пробиотики это микробные препараты, представляющие собой стабилизированные культуры микроорганизмов, которые обладают антагонистической активностью по отношению к патогенной микрофлоре. По эффективности действия пробиотики не уступают

некоторым антибиотикам и химиотерапевтическим средствам. Кроме того, они не оказывают губительного действия на микрофлору пищеварительного тракта, не загрязняют продукты птицеводства и животноводства, а значит, безопасны для людей их потребляющих, не загрязняют окружающую среду. В отличие от антибиотиков пробиотики не подавляют развитие нормальной микрофлоры кишечника, что не приводит к нарушению микробиоценоза в пищеварительном тракте, возникновению дисбактериозов, накоплению остаточных их количеств в органах и тканях животных и к другим нежелательным эффектам. В последние годы появились новые подходы к лечению дисбактериозов, основанные на восстановлении естественной микрофлоры организма с помощью биологически активных пробиотиков.

Важной особенностью пробиотиков является их способность повышать противоинфекционную устойчивость организма, оказывать в ряде случаев противоаллергенное действие, регулировать и стимулировать пищеварение. В настоящее время в медицине и ветеринарии используют лактобактерин, бифидумбактерин, колибактерин, бификол, ацилакт и другие. Важным арсеналом совершенствования биопрепаратов являются бактерии рода *Vacillus*. Свойства некоторых штаммов этой группы бактерий настолько разносторонни и привлекательны, что только за последние годы на их основе разработано более десятка эффективных препаратов. Чем же привлекают исследователей бациллы как основа пробиотиков? Что делает их высокоэффективными? В первую очередь – это их безвредность для макроорганизма даже в концентрациях, значительно превышающих рекомендуемые для применения, а также способность ряда штаммов существенно повышать неспецифическую резистентность макроорганизма. Важнейшими свойствами некоторых штаммов бацилл являются их антагонистическая активность ко многим патогенным и условно патогенным микроорганизмам;

высокая ферментативная активность, позволяющая существенно регулировать и стимулировать пищеварение. Пробиотики широко применяются в ветеринарии для коррекции нарушений микрофлоры (дисбактериозы), вызванной нерациональным применением антибиотиков, нарушением кормления, перенесенными инфекционными заболеваниями, для профилактики и лечения острых кишечных инфекций. Спектр показаний для применения пробиотиков в клинической практике может быть существенно расширен. Так, выявлены их позитивные эффекты при лечении некоторых инфекций мочеполовых путей, гнойно-воспалительных и многих других. Бурное развитие исследований по разработке новых пробиотиков и изучение механизма их лечебно-профилактического действия, дает основания утверждать, что в ближайшее время пробиотики в значительной степени дополнят, а в некоторых случаях потеснят используемые в ветеринарии небезопасные для организма антибиотики. Однако, следует отметить, что пробиотики в основном используются для лечения желудочно-кишечных инфекций. Подробно о пробиотиках и механизме их действия бактериальной можно ознакомиться по работам [5–7].

Бактериофаги.

К возможностям преодоления антибиотикорезистентности относят также терапию бактериальных инфекций с помощью бактериофагов. Эти биопрепараты характеризуются выраженным клиническим эффектом. Современные биотехнологии позволяют использовать бактериофаговую терапию при лечении ряда острых кишечных и легочных инфекций. Преимуществами фаготерапии является её высокая специфичность, отсутствие подавления нормальной микрофлоры, бактерицидное действие, самореplikация бактериофагов в очаге поражения, отсутствие токсических эффектов, безопасность во время беременности, хорошая переносимость. Использование бактериофагов можно назвать высокоспецифичной антибактериальной терапией.

Бактериофаги обладают строгой специфичностью, направленностью и, в отличие от антибиотиков, не подавляют нормальную микрофлору, иммунную защиту и не способствуют алергизации животных. Препараты бактериофагов имеют хорошие перспективы в качестве альтернативы антибиотикам. По мнению экспертов, данное направление будет активно развиваться. Перспективным является создание препаратов, представляющих комбинацию антибиотических средств и фагов, создание фагов с заданными свойствами и нужной специфичностью и разработка новых форм препаратов. Использование бактериофагов при септических бактериальных инфекциях в настоящее время не практикуется, поскольку при введении в/м бактериофаги выступают как антигены и против них вырабатываются антитела, которые их нейтрализуют.

Лечебно-профилактические бактериофаги содержат поликлональные вирулентные бактериофаги широкого диапазона действия, активные в т. ч. и в отношении бактерий, устойчивых к антибиотикам. Фаготерапия может успешно сочетаться с назначением антибиотиков. Перспективы применения бактериофагов касаются не только антимикробной терапии, но и высокоточной диагностики, а также онкологии. Ценнейшие потребительские свойства бактериофагов – безопасность и не токсичность. Это препараты пролонгированного действия: они “работают” до тех пор, пока не уничтожен патоген, а затем выводятся из организма. Подробно о механизме действия бактериофагов можно ознакомиться по работам [2, 10].

Иммуностимуляторы.

Успехи иммунологии последних лет способствовали получению новых эффективных препаратов для иммуностимуляции неспецифических и специфических факторов иммунитета. Иммуностимуляция – усиление неспецифических и специфических факторов иммунного ответа. Данная группа препаратов объединяет большое количество молекул разнообразной природы с

различными механизмами действия, оказывающих благотворное влияние на нормальное протекание иммунных процессов в органах и тканях организма, часто без выраженной избирательности, что затрудняет помещение их в стандартные «рамки» и четкую научную классификацию. Существует большое количество препаратов, обладающих иммуностимулирующим действием, которые классифицируются на 4 большие группы:

- Биологические (препараты из вирусов, микроорганизмов, крови, витамины; препараты растительного и животного происхождения, продукты пчеловодства).

- Химические (гидроокись алюминия, пиримидиновые производные, металлы и их соли).

- Синтетические полиэлектролиты (синтетические полинуклеотиды, лекарственные препараты)

- Физические (ультразвук, магнитное поле и др.).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В животноводстве и птицеводстве используют неспецифические природные и синтетические иммуномодуляторы: витамины, минеральные вещества. Общее для всех иммуномодуляторов активация иммунокомпетентных клеток – макрофагов, различных субпопуляций лимфоцитов, а также гуморальных факторов иммунной системы: комплемента, пропердина, лизоцима, бета лизоцинов, нормальных антител. О применении витаминов для стимуляции иммунной системы животных и птиц положительно отзываются специалисты сельхозпредприятий. Так, токоферол, ретинол, витамин С обладают выраженными восстановительными (антиоксидантными) свойствами, стимулирующими как клеточные реакции, так и гуморальный иммунитет.

Иммуностимулирующие препараты зарекомендовали себя как крайне необходимые в проведении неспецифической и специфической профилактики бактериальных и вирусных болезней животных и птиц. Число применяемых на производстве иммуностимуляторов неуклонно растёт, появляются новые препараты,

хорошо зарекомендовавшие себя на практике. К числу новинок можно отнести Анандин. Входящий в состав препарата глюкаминопропилкарбакридон (анандин), относится к группе низкомолекулярных индукторов цитокинов и обладает противовоспалительным и иммуномодулирующим действием. Анандин стимулирует выработку эндогенного интерферона, повышает функциональную активность Т-лимфоцитов и макрофагов, активизирует продукцию провоспалительных цитокинов. Иммуностимуляторы внедряются в практику на животноводческих и птицеводческих предприятиях и применяются как средства, способствующие профилактике, лечению вирусных бактериальных, грибковых и паразитарных заболеваний [1, 4, 9, 11].

В сложившейся обстановке с распространением антимикробной резистентности считаем важным максимально направить усилия ветеринарных научно - исследовательских и образовательных учреждений, практических ветеринарных специалистов на безусловное выполнение Распоряжения Правительства Российской Федерации от 16 августа 2024 года № 2214-р «О плане мероприятий на 2025-2030гг по реализации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 года».

ANTIBIOTIC RESISTANCE AND ALTERNATIVE METHODS OF PREVENTION AND CONTROL OF BACTERIAL INFECTIONS

Gusev A.A.¹ – Doctor of Veterinary Sciences, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Director's counselor; **Avilov V.M.**² – Doctor of Veterinary Sciences, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Professor; **Stekolnikov A.A.**^{3*} – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of RAS; **Engashev S.V.**⁴ – Doctor of Veterinary Sciences, academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, General director

*stekolnikov-anatolii@mail.ru

¹ Vetpostavka

² Nizhny Novgorod State Agrotechnological University

³ St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

⁴ NVC Agrovetzaschita

ABSTRACT

The focus of clinical microbiology is on the problems of the emergence, spread and evolution of microbial resistance to antibiotics. Antibiotic resistance is evaluating as one of the significant threats to humanity and livestock in the 21st century. This is due to the fact of the slowdown of the development of new antimicrobial drugs, there for increasing the antibiotic resistance and the emergence the pan-resistant strains of microbes. Currently, the problem of antimicrobial resistance of bacteria has reached alarming proportions, which leads to a decrease in the effectiveness of therapy for bacterial infections and the necessity to use more expensive drugs. Antibiotic resistance of bacterial strains is one of the most serious threats to modern veterinary medicine and health care, which has arisen as a result of uncontrolled, and in some cases unreasonable use of antibiotics in agriculture and medicine. Common bacterial infections may become incurable in the future, resulting in mass diseases among the population and animals. The seriousness of the current situation has prompted the World Health Organization (WHO) to compile a list of antibiotic-resistant pathogens, the spread of which poses the greatest threat. The WHO initiative aimed to draw the attention of all interested organizations, including research organizations, pharmaceutical companies and government agencies, to solving the problem of the growing resistance of microbes to antibiotics. The solution to the problem can be found in the development of clear, scientifically based rules for the use of antibiotics and the search for alternative drugs. The article provides an overview of the main causes of the development of antibiotic resistance in microorganisms, as well as brief

information on the most interesting approaches to the creation of new antibacterial agents and analyzes the most promising of them (vaccination, probiotics, phage therapy, immunostimulants, technological prevention, etc.).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дерезина Т.Н., Овчаренко Т.М., Николаев В.В. Фармакоррекция иммунного статуса коров, как основа профилактики осложнений послеродового периода и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – С. 18–25.
2. Каттер Э., Сулаквелидзе А. Бактериофаги: биология и практическое применение. Пер. с англ. – М.: Научный мир, 2012. – 640 с.
3. Козлов Р.С. Современные тенденции антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: что нас ждет дальше? / Р.С. Козлов, О.У. Стецок, И.В. Андреева // Интенсивная терапия. – 2007. – № 4. – С. 217–227.
4. Круглова Ю.С., Рогов Р.В., Рязанов И.Г. Применение препарата мастинол-форте в терапии субклинического мастита у дойных коров // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2020. – № 2. – С. 22–27.
5. Ноздрин Г.А. Фармакологические аспекты применения пробиотиков на основе *Vac. subtilis* для стимуляции роста животных / Г.А. Ноздрин, А.Б. Иванова, А.Г. Ноздрин, А.И. Шевченко // Новые фармакологические средства в ветеринарии: материалы междунар. науч.-практ. конф. – СПб., 2003. – С. 27–28.
6. Ноздрин Г.А. Технологические аспекты применения пробиотических препаратов / Г.А. Ноздрин, А.Б. Иванова, О.Ю. Ледечева, Д.А. Одношевский, А.И. Шевченко // Новые пробиотические и иммуноотропные препараты в ветеринарии: материалы Рос. науч.-практ. конф. НГАУ. – Новосибирск, 2003. – С. 55–56.
7. Панин А.Н. и др. Иммунобиотики в ветеринарной практике / А.Н. Панин, Е.В. Зинченко. – Пушино, 2000. – 163 с.
8. Смирнов Г.Б. Механизмы приобретения и потери генетической информации бактериальными геномами // Усп. совр. биол. – 2008. – Т. 128, № 1. – С. 52–76.
9. Филиппова О.Б., Симонов Г.А., Хализова З.Н. Природные иммуномодуляторы предупреждают возникновение мастита у коров // Эффективное животноводство. – 2020. – № 2 (159). – С. 66.
10. Хайруллин И.Н., Поздеев О.К., Шаймарданов Р.Ш. Эффективность применения специфических бактериофагов в лечении и профилактике хирургических послеоперационных инфекций // Казанский медицинский журнал, 2002. – № 4. – С. 258–261.
11. Anderson KL, Smith AR, Gustaffson BK, Spahr SL, Whitmore HL (1982) Diagnosis and treatment of acute mastitis in a large dairy herd. Journal of the American Veterinary Medical Association 181: 690–693.
12. Bennett P.M. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria // Brit. J. Pharmacol. – 2008. – V. 153. – P. 347–357.
13. Dapos; Costa, Vanessa; King, Christine; Kalan, Lindsay; Morar, Mariya; Sung, Wilson; Schwarz, Carsten; Froese, Duane; Zazula, Grant; Calmels, Fabrice; Debruyne, Regis; Golding, G. Brian; Poinar, Hendrik N.; Wright, Gerard D. Antibiotic resistance is ancient (англ.) // Nature. – 2011. – September (vol. 477, N 7365). – P. 457–461. – DOI: 10.1038/nature10388. – Bibcode: 2011Natur. 477.. 457D.-PMID 21881561.
14. Edelstein M.V. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study / M.V. Edelstein, E.N. Skleenova, O.V. Shevchenko, J.W. D'apos;souza, et al. // Lancet Infectious Diseases. – 2013. – Vol. – 13, № 10. – P. 867–876.
15. Girgis H., Hottes A., Tavazoie S. Genetic architecture of intrinsic antibiotic susceptibility // PLoS ONE. – 2009. – V. 4, Is. 5. – e5629.
16. Gniadek T.J. Carbapenem-resistant non-glucose-fermenting gram-negative bacilli: the missing piece to the puzzle / T.J. Gniadek, C. Karen, P.J. Simner // Journal of

Clinical Microbiology. – 2017. – Vol. 54. – P. 1700–10.

17. Jores J, Mariner JC, Naessens J (2013) Development of an improved vaccine for contagious bovine pleuropneumonia: an African perspective on challenges and proposed actions. *Vet Res* 44:122

18. Jores J., Mariner J.C., Naessens J. Development of an improved vaccine for contagious bovine pleuropneumonia: an African perspective on challenges and proposed actions. (2013) *Vet Res* 44:122

19. Levy, Stuart B. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance (англ.) // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [англ.]: journal. – 2002. – 1 January (vol. 49, no. 1). – P. 25–30. – ISSN 0305-7453. – doi:10.1093/jac/49.1.25. – PMID 11751763. Архивировано 15 сентября 2019 года.

20. Murphy D, Ricci A, Auce Z, Beechinor JG, Bergendahl H, Breathnach R, Bureš J, Da Silva D, Pedro J, Hederová J (2017) EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). *EFSA J* 15:4666

21. Sapkota A. R., Lefferts L. Y., McKenzie S., Walker P. What Do We Feed to Food-Production Animals? A Review of Animal Feed Ingredients and Their Potential Impacts on Human Health (англ.) // *Environ. Health Perspect.* [англ.]: journal. – 2007.– May (vol. 115, no.5). – P.663–670. – DOI: 10.1289/ehp.9760. – PMID 17520050. – PMC 1867957.

REFERENCES

1. Derezhina T.N., Ovcharenko T.M., Nikolaev V.V. Pharmacocorrection of the immune status of cows as a basis for preventing complications of the postpartum period, etc. // *Modern problems of science and education.* – 2014. – No. 6. – P. 18-25.

2. Cutter E., Sulakvelidze A. Bacteriophages: biology and practical application. Transl. from English. - M.: Scientific world, 2012. - 640 p.

3. Kozlov R.S. Modern trends in antibiotic resistance of pathogens of nosocomial infections in the intensive care units of Russia:

what awaits us next? / R.S. Kozlov, O.U. Stetsyuk, I.V. Andreeva // *Intensive care.* - 2007. - No. 4. - P. 217-227.

4. Kruglova Yu.S., Rogov R.V., Ryazanov I.G. Use of the drug Mastinol-forte in the treatment of subclinical mastitis in dairy cows // *Veterinary science, animal husbandry and biotechnology.* - 2020. - No. 2. - P. 22 -27.

5. Nozdrin G.A. Pharmacological aspects of the use of probiotics based on *Bac. subtilis* to stimulate animal growth / G.A. Nozdrin, A.B. Ivanova, A.G. Nozdrin, A.I. Shevchenko // *New pharmacological agents in veterinary medicine: materials of the international. scientific and practical. conf.* - St. Petersburg, 2003. - P. 27-28.

6. Nozdrin G.A. Technological aspects of the use of probiotic preparations / G.A. Nozdrin, A.B. Ivanova, O.Yu. Ledeneva, D.A. Odnoshevsky, A.I. Shevchenko // *New probiotic and immunotropic drugs in veterinary medicine: Proc. of the Rus. scientific-practical. conf. NGAU.* – Novosibirsk, 2003. – P. 55–56.

7. Panin A.N. et al. Immunobiotics in veterinary practice / A.N. Panin, E.V. Zinchenko. – Pushchino, 2000. – 163 p.

8. Smirnov G.B. Mechanisms of acquisition and loss of genetic information by bacterial genomes // *Usp. sovr. biol.* – 2008. – V. 128, No. 1. – P. 52–76.

9. Filippova O.B., Simonov G.A., Khalizova Z.N. Natural immunomodulators prevent the occurrence of mastitis in cows // *Effective animal husbandry.* - 2020. - No. 2 (159). - P. 66.

10. Khairullin I.N., Pozdeev O.K., Shaimardanov R.Sh. Efficiency of using specific bacteriophages in the treatment and prevention of surgical postoperative infections // *Kazan Medical Journal*, 2002. - No. 4. - P. 258-261.

11. Anderson KL, Smith AR, Gustaffson BK, Spahr SL, Whitmore HL (1982) Diagnosis and treatment of acute mastitis in a large dairy herd. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 181: 690-693.

12. Bennett P.M. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibi-

- otic resistance genes in bacteria // *Brit. J. Pharmacol.* – 2008. – V. 153. – P. 347–357.
13. Dapos;Costa, Vanessa; King, Christine; Kalan, Lindsay; Morar, Maria; Sung, Wilson; Schwarz, Carsten; Froese, Duane; Zazula, Grant; Calmels, Fabrice; Debruyne, Regis; Golding, G. Brian; Poinar, Hendrik N.; Wright, Gerard D. Antibiotic resistance is ancient (English) // *Nature*. – 2011. – September (vol. 477, N 7365). – P. 457–461. – DOI: 10.1038/nature10388. – Bibcode: 2011Natur. 477.. 457D.-PMID 21881561.
14. Edelstein M.V. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study / M.V. Edelstein, E.N. Skleenova, O.V. Shevchenko, J.W. D'apossouza, et al. // *Lancet Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. – 13, No. 10. – P. 867–876.
15. Girgis H., Hottes A., Tavazoie S. Genetic architecture of intrinsic antibiotic susceptibility // *PLoS ONE*. – 2009. – V. 4, Is. 5. – e5629.
16. Gniadek T.J. Carbapenem-resistant non-glucose-fermenting gram-negative bacilli: the missing piece to the puzzle / T.J. Gniadek, C. Karen, P.J. Simner // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2017. – Vol. 54. – P. 1700–10.
17. Jores J, Mariner JC, Naessens J (2013) Development of an improved vaccine for contagious bovine pleuropneumonia: an African perspective on challenges and proposed actions. *Vet Res* 44:122
18. Jores J., Mariner J.C., Naessens J. Development of an improved vaccine for contagious bovine pleuropneumonia: an African perspective on challenges and proposed actions. (2013) *Vet Res* 44:122
19. Levy, Stuart B. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance (eng.) // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [eng.]: journal. – 2002. – 1 January (vol. 49, no. 1). – P. 25–30. – ISSN 0305-7453. – doi:10.1093/jac/49.1.25. – PMID 11751763. Archived 15 September 2019.
20. Murphy D, Ricci A, Auce Z, Beechinor JG, Bergendahl H, Breathnach R, Bureš J, Da Silva D, Pedro J, Hederová J (2017) EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). *EFSA J* 15:4666
21. Sapkota A. R., Lefferts L. Y., McKenzie S., Walker P. What Do We Feed to Food-Producing Animals? A Review of Animal Feed Ingredients and Their Potential Impacts on Human Health // *Environ. Health Perspect.* [English]: journal. – 2007. – May (vol. 115, no.5). – P.663–670. – DOI: 10.1289/ehp.9760. – PMID 17520050. – PMC 1867957.

УДК: 619: 616.576.8.078
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.75

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ *ORNITHOBACTERIUM RHINOTRACHEALE* IN VIVO и IN VITRO

Моторыгин А.В. – канд. ветеринар. наук, зав. научно-технологической лабораторией (ORCID 0000-0003-3374-2601); **Ленёв С.В.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0049-3728); **Пирожков М.К.** – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. (ORCID 0009-0000-7088-9456); **Прасолова О.В.*** – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-8924-2273); **Абросимова Н.С.** – ст. науч. сотр. (ORCID 0009-0001-8701-301X); **Бабичева О.В.** – зам. зав. отделом (ORCID 0009-0003-0435-2169); **Русанов И.А.** – ст. науч. сотр. (ORCID 0009-0008-3388-2990); **Литвинов Н.А.** – гл. специалист (ORCID 0009-0008-3787-5747); **Путинцева А.В.** – науч. сотр. (ORCID 0000-0002-7552-4816); **Кирсанова Н.А.** – науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1666-3058)

Всероссийский государственный центр качества
и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов

*o.prasolova@vgnki.ru

Ключевые слова: орнитобактериоз, куриные эмбрионы, вирулентность, секвенирование

Keywords: ornithobacteriosis, chicken embryos, virulence, sequencing

Поступила: 12.05.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Целью настоящего исследования являлось выбор оптимального алгоритма работы со штаммом *Ornithobacterium rhinotracheale* «OR-21», перспективным для использования в качестве производственного штамма с целью изготовления вакцины против орнитобактериоза птиц, на основе изучения его биологических свойств, вирулентности, и генетических характеристик, после проведения ряда его пассажей на питательных средах и куриных эмбрионах СПФ. При выборе питательных сред, ростовых добавок и условий культивирования для штамма учитывали состав, чувствительность, ингибирующие и дифференциальные свойства применяемых сред, скорость роста и сохранение стабильности биологических свойств культивируемого микроорганизма. При выборе питательных сред, ростовых добавок и условий культивирования для штамма учитывали состав, чувствительность, ингибирующие и дифференциальные свойства применяемых сред, скорость роста и сохранение стабильности биологических свойств культивируемого микроорганизма. В опытах по проведению пассажей культур штамма *O. rhinotracheale* «OR-21» в качестве лабораторной модели in vivo использовали 5-7 суточные куриные эмбрионы. Оценку вирулентных свойств проводили на лабораторных животных с использованием общепринятых методов. В опытах в качестве лабораторной модели использовали кур породы «Русская белая». В процессе выбора лабораторной модели для проведения пассажей было установ-

лено, что куриные эмбрионы обладают высокой чувствительностью к исследуемому штамму, и позволяют получить более высокую концентрацию микробных клеток *Ornithobacterium rhinotracheale* «OR-21», по сравнению с пассажами на питательных средах. Кроме того, использование куриных эмбрионов СПФ, в отличие от птицы, позволило исключить контаминацию посторонней микрофлорой при проведении пассажей. Для *O. rhinotracheale* было идентифицировано 2207 генов. Отличия при сравнении геномов культур 1 и 10 пассажей не были обнаружены. Наибольшая гомология изолята после 10 пассажа наблюдается с типовым штаммом *O. rhinotracheale* DSM 15997. Установлено, что, на питательных средах максимальное количество пассажей культуры штамма ограничено 6 пересевами, при этом, на куриных эмбрионах возбудитель орнитобактериоза продолжает размножаться, но утрачивает вирулентность по отношению к ним и курам 240-дневного возраста. Потеря вирулентности не оказывает влияния на другие биологические свойства штамма.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Орнитобактериоз (ОРТ) – высококонтагиозная болезнь диких и сельскохозяйственных птиц, которая характеризуется поражением инфраорбитальных синусов, трахеи, воздушных мешков и развитием азросаккулита, плеврита и одно или двухсторонней пневмонии. Орнитобактериозом болеют гуси, фазаны, перепела, утки, голуби, цесарки, страусы. Среди сельскохозяйственной птицы заболеванию ОРТ наиболее подвержены цыплята-бройлеры и индейки мясного направления выращивания. Орнитобактерии широко распространены в промышленных птицеводческих хозяйствах. В частности, 100% родительских стад кур в Германии и Голландии являются серопозитивными по орнитобактериозу, а у 80% стад бактерии выделена бактериологическими методами. В Российской Федерации возбудитель орнитобактериоза выделен в 10 регионах. Специфические антитела обнаружены в 83% сывороток крови птиц, исследованных на ОРТ [1,2]. Источником инфекции служит больная птица, передача возбудителя в основном происходит горизонтально. В связи с тем, что *O. rhinotracheale* вызывает гибель эмбрионов, в промышленных условиях вертикальной передачи возбудителя практически не происходит.

Как правило, для возникновения болезни необходимы первичные предрасполагающие факторы. Чаще всего орнитобактериоз развивается на фоне метопневмовирусной инфекции или болезни Ньюкасла. Пушковым механизмом может слу-

жить и вирус анемии цыплят, и вирус инфекционной бурсальной болезни, приводящие к снижению резистентности птицы. Нарушение параметров микроклимата также может способствовать развитию болезни.

Диагностика инфекции затруднена, так как клинические симптомы и смертные изменения не специфичны и вызывают трудности дифференциации от других инфекций, а сама бактерия может быть изолирована из биологического материала путем бактериологического анализа только на ранней стадии заболевания, пока не произошло обсеменение вторичной микрофлорой [3].

Возбудитель болезни - *Ornithobacterium rhinotracheale* представляет собой грамотрицательные, плеоморфные, неподвижные палочки, не образующие спор и капсул. Относится к семейству *Flavobacteriaceae*. Известно 18 серотипов возбудителя (от А до L). У кур наиболее распространён серотип А (более 90% случаев). У индеек свыше 90% заболеваний связано с серотипами А, В, Д и Е [2,4].

Для лечения орнитобактериоза используют антибиотики с предварительной проверкой чувствительности к ним выделенного возбудителя, так как, чувствительность полевых изолятов *Ornithobacterium rhinotracheale* к антибактериальным препаратам быстро меняется. При выборе антибактериального средства необходимо понимать и соотносить место локализации возбудителя и биодоступность препарата. Лечение орнитобактериоза антими-

робными препаратами связано с определенными трудностями, так как большинство штаммов орнитобактерий невосприимчивы к широко распространенным антибиотикам.

В связи с тем, что заболевания сельскохозяйственных птиц в условиях промышленных комплексов вызывают немногие из серотипов возбудителя, перспективным направлением контроля орнитобактериоза является разработка средств специфической иммунопрофилактики.

Целью настоящего исследования являлось выбор оптимального алгоритма работы со штаммом *Ornithobacterium rhinotracheale* «OR-21», перспективным для использования в качестве производственного штамма для изготовления вакцины против орнитобактериоза птиц, на основе изучения его биологических свойств, вирулентности, и генетических характеристик, после проведения ряда его пассажей на питательных средах и куриных эмбрионах СПФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Все процедуры, выполненные с участием животных, соответствовали этическим стандартам, принятым Европейской конвенцией ETS № 123.

В работе использовали следующие материалы: штамм *O. rhinotracheale* «OR-21» полученный из Государственной коллекции штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ»; куриные эмбрионы СПФ 5-7 суточного возраста; кур породы «Русская белая» 240-дневного возраста. Питательные среды реактивы и диагностикумы: шоколадный агар (среда CM331, Oxoid, с добавлением 5% дефибрированной крови барана и специальной ростовой добавки FD025 фирмы Himedia); среда CM331, Oxoid, с добавлением 5% стерильной сыворотки крови лошади; среда триптозо – соевый агар, Himedia, с добавлением 5% стерильной сыворотки крови лошади; среда M428 «Эугоник», Himedia; мясопептонный бульон (МПБ), Himedia; бульон Хоттингера M1425, Himedia; бульон «Эугоник» M429, Hime-

dia; набор реактивов для окраски по Граму; тест-система API® 20 NE («bioMérieux, С.А», Франция).

Методы исследования

Определение оптимальных условий культивирования штаммов

При выборе питательных сред, ростовых добавок и условий культивирования для штамма *O. rhinotracheale* «OR-21» учитывали состав, чувствительность, ингибирующие и дифференциальные свойства применяемых сред, скорость роста и сохранение стабильности биологических свойств культивируемого микроорганизма. Показатель роста обеспечивающих свойств и скорости роста в различных условиях культивирования (с использованием CO₂ инкубатора или анаэроба с газогенераторными пакетами для штамма и *O. rhinotracheale* «OR-21») определяли по минимальному времени инкубации посевов, за которое наблюдался отчетливый, видимый невооруженным глазом рост культур микроорганизмов на питательных средах. При выборе оптимальной лабораторной модели для проведения пассажей *in vivo* или *in vitro* учитывали количество максимально возможных пересевов испытуемых штаммов на питательных средах, при сохранении стабильности биологических свойств, а также восприимчивость лабораторных животных, куриных эмбрионов и кур к штаммам. При проведении пассажей *in vitro* на плотных питательных средах учитывали интенсивность накопления и культуральные свойства колоний.

Методика проведения пассажей штаммов *in vivo* и *in vitro*.

В опытах по проведению пассажей культур штамма *O. rhinotracheale* «OR-21» в качестве лабораторной модели *in vivo* использовали 5-7 суточные куриные эмбрионы (n=50). Эмбрионы помещали в овоскоп в вертикальном положении, делали отверстие в скорлупе над центром воздушной камеры и заражали через пугу в желточный мешок суспензией суточной культуры. После заражения на отверстие в скорлупе наносили каплю расплавленного парафина, эмбрионы маркировали и

помещали в инкубатор. Проводили ежедневный осмотр с использованием овоскопа, наблюдение вели в течение 3-4 суток. В случае гибели, эмбрионы исключали из опыта и помещали в холодильник до момента вскрытия. Если эмбрион погиб в течение первых 14-18 часов, его также исключали из опыта в связи с возможной гибелью, вызванной механическим повреждением органов. На 3-4 сутки зараженные эмбрионы вскрывали и проводили контрольный высеv на питательные среды. Помимо опытов *in vivo* на куриных эмбрионах, параллельно проводили пассажи указанных культур на питательных средах. Посевы культивировали в анаэробе и в CO₂ инкубаторе в микроаэрофильных условиях при температуре 37 °C в течении 24-72 ч для последующих пересевов.

Методы изучения культуральных, морфологических и биохимических свойств.

Первичную идентификацию исследуемых культур проводили методами времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-ToF-MS) и ускоренной биохимической идентификации на анализаторе VITEK 2 Compact. При изучении культуральных, морфологических и тинкториальных свойств микроорганизмов, применяли общепринятые микробиологические методы исследования. Ферментативные свойства определяли с использованием набора API® 20 NE. Оценку вирулентных свойств проводили на лабораторных животных с использованием общепринятых методов. В опытах в качестве лабораторной модели использовали кур породы «Русская белая». Для определения вирулентных свойств *O. rhinotracheale* «OR-21», кур 240-дневного возраста заражали смывом агаровой культуры.

Молекулярно-генетические методы, программное обеспечение и используемые ресурсы

Выделение ДНК осуществляли с использованием набора реагентов «PureLink Genomic DNA» (Invitrogen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию ДНК измеряли на флу-

ориметре Quantus (Promega) с использованием набора реагентов QuantiFluor®ONE dsDNA System (Promega). Подготовку ДНК-библиотеки для секвенирования, оценку их качества и массивное параллельное секвенирование проводили по стандартной операционной процедуре на платформе MiSeq (Illumina).

Для биоинформатического анализа данных полногеномного секвенирования и сборки геномов *de novo* использовались следующие программы: FastQC 0.11.17 [6], Trimmomatic v.0.36 [7], SPAdes 2.11.1 [8], QUAST 4.6.3 [9], MAUVE v.20150226 [10]. Определение видовой принадлежности бактерии проводили на онлайн-сервисе Центра геномной эпидемиологии Датского технического университета (CGE) (обновления на апрель 2022) с помощью KmerFinder server (версия 3.0.2) [11]. Аннотация геномов бактерий была выполнена с помощью сервера RAST [12]. Для поиска «коровых генов» аминокислотные последовательности аннотированных генов были кластеризованы с помощью программы CD-HIT (идентичность 95%, пересечение 90%).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Определение оптимальных условий культивирования и лабораторной модели для проведения пассажей in vivo и in vitro.

Для определения оптимальных условий для культивирования штамма *O. rhinotracheale* «OR-21» проводили посевы на плотные питательные среды (шоколадный агар (среда CM331, Oxoid, с добавлением 5% дефибрированной крови барана и специальной ростовой добавки FD025 фирмы Himedia), среду CM331 с добавлением 5% стерильной сыворотки крови КРС, Himedia, Триптозо – соевый агар с добавлением 5% стерильной сыворотки крови КРС, M428 «Эугоник», Himedia) и жидкие питательные среды (МПБ, бульон Хоттингера M1425, Himedia, бульон «Эугоник» M429, Himedia).

Культивирование посевов проводили при 37°C двумя методами: - в CO₂ инкубаторе с концентрацией углекислого газа – 7%; и - в анаэробе с использованием газогенераторных пакетов для микроаэро-

фильных микроорганизмов с итоговой концентрации CO_2 – 5-7%.

Наиболее высокие ростообеспечивающие свойства были у среды CM331 при добавлении 5% сыворотки крови лошади и бульона Хоттингера M1425 при культивировании в анаэробных условиях в CO_2 инкубаторе или в анаэроостате с использованием для поддержания газовой смеси газогенераторных пакетов. Визуальный рост культур на плотной и жидкой питательных средах наблюдался через 48 ч. При этом на указанных средах, накопление культуры *O. rhinotracheale* «OR-21» было выше по сравнению со средами CM331 при добавлении 5% дефибрированной крови барана с добавлением ростовой добавки FD025, агаром M428 «Эугоник», триптозо – соевым агаром, бульоном M429 «Эугоник».

В результате проведенных исследований, для культивирования штамма *O. rhinotracheale* «OR-21» были определены питательные среды: среда CM331 с добавлением 5% сыворотки крови лошади и бульон Хоттингера M1425 и условия выращивания путем термостатирования при температуре 37°C в течении 48 ч в CO_2 инкубаторе или анаэроостате с использованием газогенераторных пакетов для более стабильного поддержания газовой смеси.

С учетом специфики роста и накопления культур на питательных средах, пассажи штаммов и *O. rhinotracheale* «OR-21» было решено проводить двумя методами: на питательных средах CM331 с добавлением 5% сыворотки крови лошади и бульоне Хоттингера M1425, и с использованием 5-7 суточных куриных эмбрионов СПФ.

В процессе выбора лабораторной модели для проведения пассажей было установлено, что куриные эмбрионы обладают высокой чувствительностью к исследуемому штамму, и позволяют получить более высокую концентрацию микробных клеток *O. rhinotracheale* «OR-21», по сравнению с пассажами на питательных средах.

Кроме того, использование куриных эмбрионов СПФ, в отличии от птицы,

позволило исключить контаминацию посторонней микрофлорой при проведении пассажей.

Проведение пассажей штамма O. rhinotracheale методами in vivo и in vitro.

При проведении пассажей штамма *O. rhinotracheale* «OR-21» на куриных эмбрионах после каждого заражения на 3-4 сутки проводили вскрытие эмбриона и посев на плотные питательные среды, после культивирования изучали чистоту роста, культуральные, морфологические свойства колоний и готовили суспензию культуры для следующего пассажа на куриных эмбрионах. С целью сохранения резервной культуры для совершения повторного посева, на случай отсутствия роста, от 1-2 зараженных куриных эмбрионов, с каждого пассажа, отбирали желток и хранили в замороженном состоянии.

При работе только на питательных средах максимальное количество пассажей для *O. rhinotracheale* «OR-21» составило – 6, после указанного количества пересевов культура уже не высевалась на плотные среды и дальнейшие исследования проводили только с использованием куриных эмбрионов. Гибель эмбрионов при заражении культурой *O. rhinotracheale* «OR-21» отмечали до 6-го пассажа. При заражении смывами культуры с 6-го по 10-й пассаж гибель куриных эмбрионов не наблюдали.

Изучение культуральных, морфологических и биохимических свойств O. rhinotracheale

Культуральные свойства *O. rhinotracheale* на среде CM331, с добавлением 5% дефибрированной крови барана в микроаэрофильных условиях, при температуре 37°C характеризовались ростом (по ходу петли) в течении 24-48 ч круглых, выпуклых, мелких гладких, диаметром менее 1 мм колоний полупрозрачного цвета, с ровными краями зоны гемолиза отсутствовали. При культивировании на бульоне Хоттингера M1425 с добавлением 1% сыворотки крови КРС наблюдался слабый диффузный рост, бульон оставался полупрозрачным. При микроскопии

мазков, окрашенных по Граму, наблюдали мелкие грамтрицательные полиморфные палочки овоидной формы, редко наблюдались палочки нитевидной формы, споры и капсулы отсутствовали.

Биохимические свойства, по результатам исследований 1-го и 10-го пассажей исследуемых культур, так же оставались одинаковыми. Культуры ферментировали глюкозу, сахарозу, мальтозу, маннит, были оксидазоположительными, не утилизировали цитрат и мочевины, не образовали индол и сероводород, не обладали лизиндегидролазой и аргининдегидролазой, имели орнитиндекарбоксилазу.

Изучение вирулентных свойств штаммов

Вирулентные свойства 1-го, 6-го и 10-го пассажей культур *O. rhinotracheale* определяли, заражая взрослых кур (по 20 птиц в группе). Заражение проводили смывом свежей агаровой культуры с концентрацией 3×10^8 КОЕ/мл интраназально, в объеме 0,1 мл. Вирулентные свойства оценивали по наличию характерных признаков заболевания у птицы.

У всей зараженной культурой 1-го пассажа *O. rhinotracheale* птицы отмечали поражение инфраорбитальных синусов, воздушных мешков, гибель птицы не наблюдали. Зараженные взрослые куры смывом культуры *O. rhinotracheale* 6-го и 10-го пассажа оставались живыми и клинически здоровыми в течение 14 суток наблюдения.

Результаты секвенирования генома культур *O. rhinotracheale* 1 и 10 пассажей

Данные, полученные при бионформатическом анализе полногеномных последовательностей систематизированы в таблицах 1-3. В качестве лучшей выбрана сборка с наименьшим количеством контигов и наибольшим значением N50, характеристики представлены в таблице 1.

Для *O. rhinotracheale* было идентифицировано 2207 генов. Отличия при сравнении геномов культур 1 и 10 пассажей не были обнаружены. Наибольшая гомология изолята после 10 пассажа наблюдается с типовым штаммом *O. rhinotracheale* DSM 15997 [13, 14]. В других мировых коллекциях, кроме немецкой, входящих во всемирную ассоциацию коллекций культур (WDCM) штамм представлен под следующими номерами: ATCC 51463 (США); CCUG 23171 (Швеция); LMG 9086 (Бельгия). Образцом штамма располагает институт Пастера (Франция) под номером CIP 104009T. Штамм изолирован от индейки с респираторной патологией в Великобритании в 1988 году. Свойства штамма описаны Vandamme et al. 1994 г., что способствовало выделению отдельной таксономической группы [15] Идентификационный номер в NCBI – сборка полного генома NC_018016.1 (2012), идентификация по 16S РНК - L19156 [16, 17].

Таблица 1 – Характеристики сборки геномов

Образец	Кол-во контигов > 500 п.н.	Максимальная длина контига	Общая длина контигов	N50
ОРТ 1пасс	54	217366	2298146	90599
ОРТ 10пасс	56	219274	2297491	97318

Таблица 2 – Аннотация геномов с помощью сервера RAST

Образец	Кол-во подсистем	CDS	RNA
ОРТ 1пасс	217	2259	43
ОРТ 10пасс	217	2269	42

Таблица 3 – Результаты генотипирования исследуемых штаммов

Образец	Результаты поиска по KmerFinder
OPT 1пасс	NC_018016.1 <i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> DSM 15997
OPT 10пасс	

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Оптимальными питательными средами, обеспечивающими максимальный рост культуры штамма *O. rhinotracheale* «OR-21», являются среда CM331 с добавлением 5% сыворотки крови лошади и бульон Хоттингера M1425 и условия выращивания путем термостатирования при температуре 37°C в течении 48 ч в CO₂ инкубаторе или анаэробе с использованием газогенераторных пакетов для более стабильного поддержания газовой смеси. Штамм также, хорошо размножается на куриных эмбрионах СПФ 5-7 дневного возраста. Установлено что, на питательных средах максимальное количество пассажей культуры штамма ограничено 6 пересевами, при этом, на куриных эмбрионах возбудитель орнитобактериоза продолжает размножаться, но утрачивает вирулентность по отношению к ним и курам 240-дневного возраста. Потеря вирулентности не оказывает влияния на другие биологические свойства штамма. Отличий между культуральными, морфологическими, ферментативными свойствами и генетическими характеристиками между культурами штамма 1-го и 10-го пассажа не обнаружено.

BIOLOGICAL PROPERTIES AND GENETIC CHARACTERISTICS ORNITHOBACTERIUM RHINOTRACHEALE IN VIVO И IN VITRO

Motorygin A.V. – Candidate of Sciences (Veterinary medicine) head of the science and technology laboratory, (orcid.org/0000-0003-3374-2601); **Lenev S.V.** – Candidate of Sciences (Biology), Leading researcher of the science and technology laboratory (orcid.org/0000-0002-0049-3728); **Pirozhkov M.K.** – Doctor of Sciences (Veterinary medicine), Chief Researcher of the science and technology laboratory, (orcid.org/ 0009-

0000-7088-9456); **Prasolova O.V.*** – Candidate of Sciences (Veterinary medicine), Leading researcher of the Molecular Biology Department (orcid.org/0000-0001-8924-2273); **Abrosimova N.S.** – Senior Researcher of the science and technology laboratory (orcid.org/0009-0001-8701-301X); **Babicheva O.V.** – Deputy Head of Department sanitary and clinical microbiology (orcid.org/ 0009-0003-0435-2169); **Rusanov I.A.** – Senior Researcher of the science and technology laboratory (orcid.org/ 0009-0008-3388-2990); **Litvinov N.A.** – chief specialist of the science and technology laboratory (orcid.org/ 0009-0008-3787-5747); **Putintseva A.V.** – research fellow of the Molecular Biology Department (orcid.org/0000-0002-7552-4816); **Kirsanova N.A.** – research fellow of the Molecular Biology Department (orcid.org/0000-0002-1666-3058)

The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality

*o.prasolova@vgnki.ru

ABSTRACT

The aim of this study was to select the optimal algorithm for working with the *Ornithobacterium rhinotracheale* OR-21 strain, which is promising for use as a production strain for the manufacture of a vaccine against ornithobacteriosis in birds, based on the study of its biological properties, virulence, and genetic characteristics after a series of its passages on nutrient media and SPF chicken embryos. When selecting nutrient media, growth additives, and cultivation conditions for the strain, the composition, sensitivity, inhibitory and differential properties of the media used, the growth rate, and the preservation of the stability of the biological properties of the cultured microorganism were taken into account. When selecting nutrient media, growth additives, and

cultivation conditions for the strain, the composition, sensitivity, inhibitory and differential properties of the media used, the growth rate, and the preservation of the stability of the biological properties of the cultured microorganism were taken into account. In experiments on conducting passages of *O. rhinotracheale* OR-21 strain cultures, 5–7-day old chicken embryos were used as a laboratory model in vivo. The virulence properties were assessed on laboratory animals using generally accepted methods. In the experiments, Russian White chickens were used as a laboratory model. In the process of choosing a laboratory model for conducting passages, it was found that chicken embryos are highly sensitive to the studied strain and allow obtaining a higher concentration of *Ornithobacterium rhinotracheale* OR-21 microbial cells, compared to passages on nutrient media. In addition, the use of SPF chicken embryos, unlike poultry, made it possible to exclude contamination with foreign microflora during passages. 2207 genes were identified for *O. rhinotracheale*. No differences were found when comparing the genomes of cultures of passages 1 and 10. The highest homology of the isolate after 10 passages is observed with the typical strain *O. rhinotracheale* DSM 15997. It was found that, on nutrient media, the maximum number of passages of the strain culture is limited to 6 transfers, while on chicken embryos, the causative agent of ornithobacteriosis continues to multiply, but loses virulence in relation to them and 240-day-old chickens. The loss of virulence does not affect other biological properties of the strain.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Махмутова Л. Р., Макаров В. В. *Ornithobacterium rhinotracheale*: бактериология, патология, эпизоотология // Ветеринарная патология 2006. № 4. С. 181–185.
2. Шурахова Ю.Н., Кононенко А.Б., Виткова О.Н. *Ornithobacterium rhinotracheale*: распространение и диагностика // III Междунар. вет. конгр. по птицеводству. М., 2007. - С. 181 -183.
3. Banani M., Pourbakhsh S.A., Khaki P. Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates from commercial chickens // Arch. Inst. Razi.-2001.-Vol. 52.-P. 27-34.
4. Шурахова Ю. Н. Биологические особенности популяции *Ornithobacterium rhinotracheale* и перспективы ее обнаружения в объектах птицеводства // Ветеринарная патология. 2008. № 1. С. 95–99.
5. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the Institute for Laboratory Animal Research. 2011 Division on Earth and Life Studies, National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; National Academy Press: Washington, DC, USA. Retrieved from: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>. Retrieved on 12-10-2022
6. Andrews, S. (2010). FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
7. Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30 (15), 2114-2120.
8. Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., & Pevzner, P. A. (2012). SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of computational biology*, 19(5), 455-477.
9. Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29(8), 1072-1075.
10. Darling, A. C., Mau, B., Blattner, F. R., & Perna, N. T. (2004). Mauve: multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements. *Genome research*, 14 (7), 1394-1403.
11. Hasman H. et al. Rapid whole-genome sequencing for detection and characterization of microorganisms directly from clinical samples // *Journal of clinical microbiology*. – 2014. – Т. 52. – № 1. – С. 139-146.]
12. Brettin T. et al. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST al-

- algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes // Scientific reports. – 2015. – Т. 5. – С. 8365. 13.<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=867902&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (дата обращения 16.10.23)
 14. Leibniz Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH ; Curators of the DSMZ; DSM 15997 14
 15. Vandamme P, Segers P, Vancanneyt M, van Hove K, Muters R, Hommez J, Dewhirst F, Paster B, Kersters K, Falsen E, et al. *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov., sp. nov., isolated from the avian respiratory tract. *Int J Syst Bacteriol.* 1994 (1):24-37. doi: 10.1099/00207713-44-1-24. PMID: 8123560.
 16. Kastelic S, Berčič RL, Cizelj I, Benčina M, Makrai L, Zorman-Rojs O, Narat M, Bisgaard M, Christensen H, Benčina D. *Ornithobacterium rhinotracheale* has neuraminidase activity causing desialylation of chicken and turkey serum and tracheal mucus glycoproteins. *Vet Microbiol.* 2013 Mar 23;162(2-4):707-712. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.09.018. Epub 2012 Sep 26. PMID: 23062950
 17. Verslyppe, B., De Smet, W., De Baets, B., De Vos, P., Dawyndt P.: StrainInfo introduces electronic passports for microorganisms. *Syst Appl Microbiol.* 37: 42 - 50 2014 (DOI 10.1016/j.syapm.2013.11.002 , PubMed 24321274)
- REFERENCES**
1. Makhmutova L. R., Makarov V. V. *Ornithobacterium rhinotracheale*: bacteriology, pathology, epizootology // *Veterinary pathology* 2006. No. 4. P. 181–185.
 2. Shurakhova Yu.N., Kononenko A.B., Vitkova O.N. *Ornithobacterium rhinotracheale*: distribution and diagnostics // III Int. veterinary congress on poultry farming. Moscow, 2007. - P. 181-183.
 3. Banani M., Pourbakhsh S.A., Khaki P. Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates from commercial chickens // *Arch. Inst. Razi.* -2001.-Vol. 52.-P. 27-34.
 4. Shurakhova Yu. N. Biological characteristics of the *Ornithobacterium rhinotracheale* population and prospects for its detection in poultry farming facilities // *Veterinary pathology*. 2008. No. 1. P. 95–99.
 5. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the Institute for Laboratory Animal Research. 2011 Division on Earth and Life Studies, National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*; National Academy Press: Washington, DC, USA. Retrieved from: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>. Retrieved on 12-10-2022
 6. Andrews, S. (2010). FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
 7. Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30 (15), 2114-2120.
 8. Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., & Pevzner, P. A. (2012). SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of computational biology*, 19(5), 455-477.
 9. Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29(8), 1072-1075.
 10. Darling, A. C., Mau, B., Blattner, F. R., & Perna, N. T. (2004). Mauve: multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements. *Genome research*, 14 (7), 1394-1403.
 11. Hasman H. et al. Rapid whole-genome sequencing for detection and characterization of microorganisms directly from clinical samples // *Journal of clinical microbiology*. – 2014. – Т. 52. – №. 1. – С. 139-146.]
 12. Brettin T. et al. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes // *Scientific reports*. – 2015. – Т. 5. – С. 8365.

13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=867902&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (дата обращения 16.10.23)
14. Leibniz Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH ; Curators of the DSMZ; DSM 15997 14
15. Vandamme P, Segers P, Vancanneyt M, van Hove K, Muters R, Hommez J, Dewhirst F, Paster B, Kersters K, Falsen E, et al. *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov., sp. nov., isolated from the avian respiratory tract. *Int J Syst Bacteriol.* 1994 (1):24-37. doi: 10.1099/00207713-44-1-24. PMID: 8123560.
16. Kastelic S, Berčič RL, Cizelj I, Benčina M, Makrai L, Zorman-Rojs O, Narat M, Bisgaard M, Christensen H, Benčina D. *Ornithobacterium rhinotracheale* has neuraminidase activity causing desialylation of chicken and turkey serum and tracheal mucus glycoproteins. *Vet Microbiol.* 2013 Mar 23;162(2-4):707-712. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.09.018. Epub 2012 Sep 26. PMID: 23062950
17. Verslyppe, B., De Smet, W., De Baets, B., De Vos, P., Dawyndt P.: StrainInfo introduces electronic passports for microorganisms. *Syst Appl Microbiol.* 37: 42 - 50 2014 (DOI 10.1016/j.syapm.2013.11.002 , PubMed 24321274)



ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 599.742.13: 595.775.3: 591.531.213

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.85

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СОБАК И КОШЕК ИНСЕКТИЦИДНЫХ КАПЕЛЬ НЕОТЕРИКА ПРОТЕКТО 4 ПРИ КТЕНОЦЕФАЛИДОЗЕ

Глазунова Л.А.^{1*} – д-р ветеринар. наук, проф. каф. морфологии, физиологии и общей патологии (ORCID 0000-0003-4050-5903); Чудинова И.А.¹ – зав. ветеринарной клиникой (ORCID 0009-0002-6123-3441); Глазунов Ю.В.² – д-р ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-6496-2450); Ткачева Ю.А.¹ – ветеринарный врач (ORCID 0009-0002-9740-2497); Сидорова К.А.¹ – д-р биол. наук, проф., зав. каф. морфологии, физиологии и общей патологии (ORCID 0000-0001-9899-2869).

¹ ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья

² ФГБУН Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук

* glazunoval@gausz.ru

Ключевые слова: эктопаразиты, кошки, собаки, ктеноцефалидоз, Неотерика протекто 4, функциональное состояние, коэффициент *de Ritis*, инсектоакарициды.

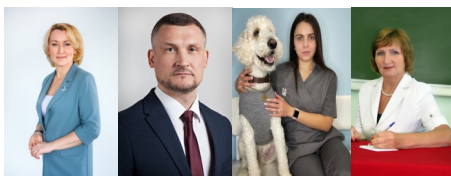
Key words: ectoparasites, cats, dogs, ctenocephalidosis, Neoterica Protecto 4, functional state, *de Ritis* coefficient, insectoacaricides.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FWRZ-2021-0018).

Поступила: 19.05.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

В связи с выработкой устойчивости у эктопаразитов для лечения и профилактики арахноэнтомозов у домашних животных целесообразно применение комплексных инсектоакарицидов, которые не только надёжно защищают, но и не вызывают интоксикации. Целью исследований явилось изучить терапевтическую эффективность и влияние на функциональное состояние собак и кошек инсектицидных капель «Неотерика протекто 4» при ктеноцефалидозе. Распространение инвазии и эксперименты по определению эффективности и безопасности инсектицида проводили на кошках и собаках различного социального статуса. Установлено, что применение инсектоакарицидных капель Неотерика протекто 4 позволяет избавить кошек и собак от блох через 48-72 часов после однократного точечного нанесения

препарата на кожу в области между лопаток. Отмечено, что чем меньше обилие паразитов на животном, тем быстрее наступает выздоровление. Остаточное инсектицидное действие препарата составило не менее тридцати суток. Установлено отсутствие отклонений в физиологическом состоянии и поведении животных. Определено, что блошинная инвазия не вызвала значимых изменений в гомеостазе животных по показателям креатинина, мочевины, АЛТ и АСТ. У собак всех исследуемых возрастов коэффициент де Ритиса до начала эксперимента находился в нижних границах референсного диапазона, а через трое суток после применения изучаемого инсектицида соотношение аминотрансфераз приблизилось к референсным значениям. У кошек зафиксировано увеличение показателя коэффициента де Ритиса до начала лечения, и сохранение высоких показателей сразу после применения, исследуемого инсектоакарицида. У кошек в возрасте 1-7 лет наблюдали снижение уровня соотношения аминотрансфераз, а у пожилых кошек напротив, происходило увеличение коэффициента де Ритиса. При применении инсектоакарицидов необходимо учитывать исходное функциональное состояние животных и при необходимости включать в протокол терапевтических мероприятий гепатопротекторы для предотвращения развития побочных явлений и повреждения органов детоксикации, особенно у кошек старше семи лет.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современная жизнь человека неразрывно связана с домашними питомцами, которые выполняют роль компаньонов, охраняют, выполняют хозяйственные функции и скрашивают быт, оказывая благоприятное психологическое и физиологическое воздействие [1]. Основу численности непродуктивных домашних животных составляют кошки и собаки, которые часто живут совместно с владельцами и их состояние здоровья имеет большое значение для человека. Особенно важно предотвращение зоонозных инфекций и инвазий, которые могут причинять неудобства и вред здоровью владельца и членам его семьи. Среди часто встречаемых патологий, которые регистрируют у домашних животных паразитозы распространены довольно широко [2]. Инвазии фиксируются у животных различного социального статуса, но особенно часто их резервуарами и источниками являются безнадзорные кошки и собаки. В настоящее время горожане часто прибегают к возможности завести домашнее животное со сложной судьбой, выбирая компаньона в специализированных приютах. Программы адаптации бездомных животных включают противопаразитарные обработки и вакцинацию от основных инфекционных болезней, в том числе бешенство, проведение манипуляций для предотвра-

щения размножения этих животных в будущем, что готовит собак и кошек для передачи в семью [3]. Тем не менее на улицах городов численность безнадзорных животных снижается незначительно, и они продолжают посещать места для выгула владельческих животных и детские площадки, распространяя возбудителей болезней и подвергая опасности животных и людей.

Наиболее часто как у владельческих, так и безнадзорных кошек, и собак регистрируется ктеноцефалидоз, возбудителями которого являются блохи. Болезненные укусы этих насекомых провоцируют беспокойство, а при повышенной чувствительности к компонентам слюны блох может развиваться аллергический блошиный дерматит [4, 5]. Кроме того, возбудители ктеноцефалидоза являются промежуточными хозяевами цестоды *Dipylidium caninum*, которая вызывает дипилидиоз как у человека, так и у животных [6].

На рынке ветеринарных препаратов достаточно широкий ассортимент инсектоакарицидов, которые позволяют лечить и предупреждать акарозы и энтомозы животных, а также профилактировать трансмиссивные инфекции и инвазии [7]. Постоянно расширяется спектр действующих веществ паразитоцидов, появляются композиционные формы, состоящие из

нескольких соединений, создаются новые препаративные формы, что позволяет эффективно предупреждать и лечить применения эктопаразитозы [8, 9]. Доступность и бесконтрольное применение инсектоакарицидов привело к выработке устойчивости у паразитов, что снижает эффективность от их применения. Компании, производящие ветеринарные препараты, усложняют рецептуры и при создании новых соединений балансируют на грани эффективности и токсичности, что может приводить к негативному эффекту при использовании композиционных форм инсектоакарицидов [10].

В связи с этим чрезвычайно важно изучать не только терапевтическую эффективность, но и безопасность препаратов на целевых видах животных, что обеспечит комфортное применение, позволит нивелировать побочные эффекты и предотвратит утрату доверия производителя среди ветеринарных специалистов и покупателей [11].

Целью исследований явилось изучить терапевтическую эффективность и влияние на функциональное состояние собак и кошек инсектицидных капель Неотерика протекто 4 при ктеноцефалидозе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Изучение распространения ктеноцефалидоза и эффективности инсектицидных капель проводили в муниципальном приюте для безнадзорного животного города Тюмени, в ветеринарной клинике ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья в течение 2016-2021 гг. и во Всероссийском научно-исследовательском институте ветеринарной энтомологии и арахнологии ТюмНЦ СО РАН в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FWRZ-2021-0018). Исследование влияния противопаразитарного препарата на физиологическое состояние и функциональные показатели кошек и собак проводили в клинко-диагностической лаборатории ветеринарной клиники университета.

Для выявления больных ктеноцефа-

лидозом животных было обследовано 4856 собак и 5973 кошки различного социального статуса. Для установления диагноза применяли клинический осмотр, паразитологические исследования и эпизоотический анализ. Для определения влияния инсектицидного препарата на физиологическое и функциональное состояние собак и кошек проводили наблюдения за животными, а также определяли состояние органов детоксикации с помощью биохимических исследований сыворотки крови животных с определением креатинина, мочевины, аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) [12]. Всего исследована сыворотка крови от 39 собак и 17 кошек. Кровь у животных отбирали до нанесения препарата, через одни и трое суток после применения капель предварительно выдержав их на 12-часовой голодной диете. Контроль эффективности инсектицидного препарата осуществляли в течение месяца проводя клиническое обследование в первые сутки после нанесения препарата, затем через 48, 72, 96 часов, а далее каждые пять суток [13].

«Неотерика протекто 4» инсектоакарицидный препарат для собак и кошек, разработан на базе ЗАО «НПФ «Экопром» совместно с Neoterica GmbH имеющий в составе: имидаклоприд, этофенпрокс, пирипроксифен был использован в виде капель. За 30 суток до эксперимента по изучению действия инсектоакарицида животных не подвергали обработке противопаразитарными препаратами. За трое суток до применения препарата и трое суток после животные не подвергались грумингу.

Препарат «Неотерика протекто 4» наносили однократно, в виде наружной обработки точечно («spot-on») на кожу, раздвигая шерсть, в области между лопаток (место, не доступное для слизывания животным), строго по весу животного: собаки 4-10 кг - 1 мл, 10-25 кг - 2,5 мл, 25-40 кг - 4 мл, 40-60 кг - 6 мл; кошки до 4 кг - 0,4 мл, более 4 кг - 1 мл.

В исследовании принимали участие собаки пород немецкая овчарка, средне-

азиатская овчарка, и беспородные собаки в возрасте с трех месяцев до десяти лет, а также кошки пород британская короткошерстная, британская длинношерстная, шотландская вислоухая, шотландская прямоухая, и беспородные в возрасте от одного года до одиннадцати лет. При формировании экспериментальных групп для определения эффективности инсектицидных капель животных разделили в зависимости от степени инвазирования блохами: высокая - 10 и более блох на 10² см площади тела, средняя - 5 и более блох насекомых на 10² см площади тела и низкая - 1-2 блохи на 10² см площади тела. При изучении влияния инсектоакарицида на организм животных для объективности животные были разделены по видам и возрастам: собаки до одного года, собаки от одного года до семи лет, собаки старше семи лет, кошки от одного года до семи лет и кошки старше семи лет [14].

Перед нанесением инсектицидных капель животных взвешивали, у самок исключали беременность, оценивали степень инвазированности и клиническое проявление ктеноцефалидоза, которое заключалось в наличие расчесов, участков с выпадением шерсти, наличие или отсутствие зуда в течение пяти минут.

Все действия с животными проводили согласно требованиям европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и для других научных целей.

Полученные результаты обрабатывали с помощью статистических методов.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Зарегистрировано, что скорость освобождения от блох находилась в прямой зависимости от степени обилия насекомых на теле животного (таблица 1).

Отмечено, что у собак с низкой степенью инвазированности блохами быстрее происходило освобождение от паразитов. Так, через 24 часа после инсектицидной обработки блох не обнаруживали у половины подопытных животных, а на третьи сутки наблюдения они были свободны от данных эктопаразитов. В группах со средней и высокой степенью

инвазированности освобождение проходило медленнее, тем не менее число эктопаразитов с каждым днем значительно снижалось. В контрольной группе, где инсектицидную обработку не проводили, паразитирование блох наблюдали до завершения эксперимента, причем обилие паразитов увеличивалось.

У кошек в эксперименте подопытные группы состояли из животных со средней и низкой степенью инвазированности. Применение инсектоакарицидных капель «Неотерика протекто 4» позволили освободить кошек от блох уже через 48 часов, тогда как в контрольной группе индекс обилия паразитов с течением времени увеличивался.

Наблюдения за длительностью инсектицидного действия капель «Неотерика протекто 4» продолжали в течение тридцати дней. За этот период реинвазии блохами не зафиксировано. Также отмечено, что в течение срока наблюдения подопытные животные были свободны от всех видов эктопаразитов.

При наблюдении за функциональным состоянием подопытных животных в момент нанесения препарата и сразу после процедуры отклонений от физиологического состояния и в поведении у животных не отмечали. Температура тела собак и кошек, принимавших участие в эксперименте, была в пределах физиологической нормы. Применение инсектоакарицидных капель «Неотерика протекто 4» не вызывало изменений в активности и аппетите у подопытных животных. Не отмечали повышенной чувствительности в виде гиперсаливации, слезотечения и раздражения кожи.

Для выяснения влияния испытуемого состава на гомеостатические показатели кошек и собак были проведены биохимические исследования крови, результаты которых представлены в таблице 2. Проведенные биохимические исследования позволили констатировать, что блошиная инвазия не вызывала значимых изменений в гомеостазе животных по изучаемым показателям. При-

Таблица 1 – Эффективность инсектицидных капель Неотерика Протекто 4 у собак и кошек при ктеноцефалидозе

№ Группы/ степень инвазии (количество животных живых)	Эффективность применения капель Неотерика Протекто 4 через после нанесения,											
	часов											
	24				48				72			
	ИО, особей/ гол	Инва- зиров ано, гол	%	ИО, особей/ гол	Инва- зиров ано, гол	%	ИО, особей/ гол	Инва- зиров ано, гол	%	ИО, особей/ гол	Инва- зиров ано, гол	%
СОБАКИ												
1/ высокая (n=10)	11,80±0,64*	8	20	4,80±0,72	5	50	3,0±0,50	2	80	-	0	100
2/ средняя (n=10)	6,70±1,10	6	40	2,25±0,38	4	60	1,00	3	70	-	0	100
3/ низкая (n=10)	1,50±0,50	5	50	1,00	2	80	0	0	100	-	0	100
Контроль/ средняя (n=9)	7,22±0,91	9	0	7,33±1,11	9	0	7,00±0,89	9	0	6,82±1,74	9	8,11±0,84
КОШКИ												
1/ средняя (n=6)	6,83±1,16	4	33,3	1,50±0,50	2	66,7	0	0	100	-	0	100
2/ низкая (n=6)	1,50±0,50	3	50	1,00	1	83,3	0	0	100	0	0	100
Контроль/ средняя (n=5)	6,80±1,04	5	0	6,80±1,36	5	0	6,80±0,96	5	-	7,00±0,33	5	7,20±0,64

Примечание. Здесь и далее: * p<0,05

Таблица 2 – Влияние инсектицидных капель Неотерика Протекто 4 на функциональное состояние собак и кошек при лечении от кtenoцефалидоза

Группа животных	Креатинин, мкмоль/л	Мочевина, ммоль/л			АЛТ, ед./л			АСТ, ед./л				
	Показатель обработки											
	до	через одни сутки после	через трое суток после	до	через одни сутки после	через трое суток после	до	через одни сутки после	через трое суток после			
Собаки до 1 года (n=5)	119,8±13, 5	111,0±1 4,0	116,0±12, 8	8,1±0,8 8	7,64±1,3 2	7,72±0,9 0	42,2±9,36	45,2±5,3 6	43,4±7,5 2	33,0±10 ,4	40,5±6,4 8	30,4±2,4 8
Собаки 1 -7 лет (n=26)	120,12±7, 96	121,08± 7,62	119,96±9, 97	6,83±1, 41	6,60±1,2 7	6,22±0,9 6	45,42±5,3 5	47,85±5, 27	48,54±4, 96	36,0±3, 92	36,72±5, 81	35,24±4, 72
Собаки старше 7 лет (n=8)	125,5±5,5	124,13± 5,6	121,88±7, 34	7,48±1, 11	7,5±0,8	7,3±0,9	50,13±4,5 3	45,25±4, 56	43,13±4, 56	39,13±4 ,06	36,88±5, 66	30,38±8, 13
Рефе- ренные значения	26- 130		3,5-9,2			9-52			11-42			
Кошки 1 -7 лет (n=14)	121,43±47 ,69	124,29± 14,9	123,01±17 ,16	6,25±0, 75	6,71±0,7 6	6,39±0,9 7	45,57±11, 02	45,71±1 2,14	51,38±1 0,63	17,5±4, 29	17,57±2, 1	22,23±5, 63
Кошки старше 7 лет (n=3)	103,33±24 ,44	110,0±6, 67	133,33±17 ,78	6,33±0, 44	7,17±0,7 8	6,33±0,8 9	42,0±17,3 3	43,33±8, 89	58,67±6, 89	19,0±1, 33	25,67±6, 44	24,67±5, 11
Рефе- ренные значения	70- 165		5,4-12, 10			9-75			9-30			

менение комплексного инсектоакарицидного препарата также не вызывало существенных сдвигов в работе органов детоксикации. При этом стоит обратить внимание, что у кошек старше семи лет происходило увеличение уровня креатинина на 29%, хотя и находилось в пределах референсных показателей. Аналогичные изменения происходили у кошек всех исследуемых возрастов с печеночными показателями - аланинаминотрансферазой (АЛТ) и аспартатаминотрансферазой (АСТ). Так, уровень АЛТ у пожилых кошек (старше семи лет) увеличился на 39,7%, а у взрослых (от одного года до семи лет) на 12,8%. Уровень АСТ увеличился 29,8 и 27,0% у пожилых и взрослых кошек соответственно. Отметим, что печеночные показатели как до нанесения инсектоакарицида, так и через три дня после процедуры находились в физиологических границах, тем не менее значительное повышение уровня значений АЛТ и АСТ в период эксперимента подтолкнуло нас для расчёта коэффициента де Ритиса, который позволяет оценить влияние токсических веществ на печеночную и другие ткани организма животных. Результаты расчёта коэффициента де Ритиса представлены в таблице 3.

Коэффициент де Ритиса, рассчитывается соотношением уровня АСТ/АЛТ, референсным диапазоном для животных

является показатель $1,4 \pm 0,3$ ед. Несмотря на то, что в ветеринарии коэффициент де Ритиса не является ключевым показателем, который используется для диагностики, отмечено, что этот критерий отражает изменения, происходящие в организме животных при действии на них инсектоакарицидов. Так, у собак всех исследуемых возрастов коэффициент де Ритиса до начала эксперимента находился в нижних границах референсного диапазона, что указывает на незначительные повреждения клеток печени, что вероятно связано с паразитированием блох и хронической интоксикацией компонентами слюны этих паразитов. Через трое суток после применения «Неотерика протекто 4» в рекомендуемых дозах соотношение аминотрансфераз приблизилось к референсным значениям. У кошек исследуемых возрастов зафиксировано увеличение показателя коэффициента де Ритиса как до начала лечения, и сохранение высоких показателей сразу после применения, исследуемого инсектоакарицида. Отметим, что на третий день после использования «Неотерика протекто 4» у кошек в возрасте 1-7 лет наблюдали снижение уровня соотношения аминотрансфераз, а у пожилых кошек напротив, происходило увеличение коэффициента де Ритиса, что вероятно связано с токсической нагрузкой и наличием скрытых гепатопатий у кошек старше семи лет.

Таблица 3 – Коэффициент де Ритиса у собак и кошек, получавших Неотерика Протекто 4 для лечения ктеноцефалидоза

Группа животных	Коэффициент де Ритиса		
	До начала эксперимента	Через сутки после нанесения инсектоакарицида	Через трое суток после нанесения инсектоакарицида
Собаки до 1 года (n=5)	$1,28 \pm 0,12^{**}$	$1,12 \pm 0,08$	$1,43 \pm 0,05$
Собаки 1-7 лет (n=26)	$1,26 \pm 0,16$	$1,30 \pm 0,10$	$1,38 \pm 0,10$
Собаки старше 7 лет (n=8)	$1,28 \pm 0,11$	$1,23 \pm 0,12$	$1,42 \pm 0,16$
Кошки 1-7 лет (n=14)	$2,60 \pm 0,20$	$2,61 \pm 0,33$	$2,31 \pm 0,22$
Кошки старше 7 лет (n=3)	$2,21 \pm 0,24$	$1,69 \pm 0,17$	$2,38 \pm 0,27$

**** Здесь и далее: $p < 0,001$**

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Применение инсектоакарицидных капель Неотерика протекто 4 позволяет избавить кошек и собак от блох через 48-72 часов после однократного точечного нанесения препарата на кожу в области между лопаток. Отмечено, что скорость освобождения от блох находилась в прямой зависимости от степени обилия насекомых на теле животного: чем меньше обилие паразитов на животном, тем быстрее наступает выздоровление.

Инсектицидный эффект Неотерика протекто 4 составляет не менее тридцати суток.

Применение инсектоакарицидных капель Неотерика протекто 4 не вызывает отклонений в физиологическом состоянии и поведении животных. Температура тела собак и кошек, принимавших участие в эксперименте, была в пределах физиологической нормы.

Установлено, что блошиная инвазия не вызвала значимых изменений в гомеостазе животных по показателям креатинина, мочевины, АЛТ и АСТ. У собак всех исследуемых возрастов коэффициент де Ритиса до начала эксперимента находился в нижних границах референсного диапазона, что указывает на незначительные повреждения клеток печени. Через трое суток после применения Неотерика протекто 4 в рекомендуемых дозах соотношение аминотрансфераз приблизилось к референсным значениям. У кошек зафиксировано увеличение показателя коэффициента де Ритиса как до начала лечения, и сохранение высоких показателей сразу после применения, исследуемого инсектоакарицида. У кошек в возрасте 1-7 лет наблюдали снижение уровня соотношения аминотрансфераз, а у пожилых кошек напротив, происходило увеличение коэффициента де Ритиса, что вероятно связано с токсической нагрузкой и наличием скрытых гепатопатий у кошек старше семи лет.

При применении инсектоакарицидов необходимо учитывать исходное функциональное состояние животных и при необходимости включать в протокол те-

рапевтических мероприятий гепатопротекторы для предотвращения развития побочных явлений и повреждения органов детоксикации, особенно у кошек старше семи лет.

EFFICACY AND EFFECT ON THE FUNCTIONAL STATE OF DOGS AND CATS OF INSECTICIDAL DROPS OF NEOTERIC PROTECTOR 4 IN CTENOCEPHALIDOSIS

Glazunova L.A.^{1*} – D.Sc. (Veterinary Medicine), Professor, Department of Morphology, Physiology and General Pathology (ORCID 0000-0003-4050-5903); **Chudinova I.A.**¹ – Head of the Veterinary Clinic (ORCID 0009-0002-6123-3441); **Glazunov Yu.V.**² – D.Sc. (Veterinary Medicine), Leading Researcher (ORCID 0000-0001-6496-2450); **Tkacheva Yu.A.**¹ – Veterinarian (ORCID 0009-0002-9740-2497); **Sidorova K.A.**¹ – D.Sc. (Biology), Professor, Head of the Department of Morphology, Physiology and General Pathology (ORCID 0000-0001-9899-2869).

¹FGBOU VO GAU of the Northern Trans-Urals

²FGBUN Federal Research Center Tyumen Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

* glazunoval@gaus.ru

Financing: The materials were prepared within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (topic No. FWRZ-2021-0018).

ABSTRACT

Due to the development of resistance in ectoparasites, it is advisable to use complex insectoacaricides for the treatment and prevention of arachnoentomoses in domestic animals, which not only reliably protect, but also do not cause intoxication. The aim of the research was to study the therapeutic efficacy and the effect on the functional state of dogs and cats of insecticidal drops Neoterika Protector 4 in case of ctenocephalidosis. The spread of the invasion and experiments to determine the effectiveness and

safety of the insecticide were carried out on cats and dogs of different social status. It was found that the use of insectoacaricide drops Neoterika Protecto 4 allows you to rid cats and dogs of fleas 48-72 hours after a single point application of the drug to the skin in the area between the shoulder blades. It is noted that the less the abundance of parasites on the animal, the faster the recovery. The residual insecticidal effect of the drug was at least thirty days. No deviations in the physiological state and behavior of animals were found. It was determined that flea infestation did not cause significant changes in the homeostasis of animals in terms of creatinine, urea, ALT and AST. In dogs of all ages studied, the de Ritis coefficient before the experiment was in the lower limits of the reference range, and three days after the use of the studied insecticide, the aminotransferase ratio approached the reference values. In cats, an increase in the de Ritis coefficient was recorded before the start of treatment, and high values were maintained immediately after the use of the studied insectoacaricide. In cats aged 1-7 years, a decrease in the aminotransferase ratio was observed, and in older cats, on the contrary, an increase in the de Ritis coefficient occurred. When using insectoacaricides, it is necessary to take into account the initial functional state of animals and, if necessary, include hepatoprotectors in the protocol of therapeutic measures to prevent the development of side effects and damage to the detoxification organs, especially in cats over seven years old.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Frantz L.A.F., Bradley, D.G., Larson, G. et al. Animal domestication in the era of ancient genomics. *Nat Rev Genet* 21, 449–460 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41576-020-0225-0>
2. Otranto D. Diagnostic challenges and the unwritten stories of dog and cat parasites / D. Otranto // *Veterinary Parasitology*. - 2015. - Т. 212, № 1-2. - P.54-61. Otranto D. Diagnostic challenges and the unwritten stories of dog and cat parasites. *Vet Parasitol*. 2015 Aug 15;212(1-2):54-61. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.06.002. Epub 2015 Jun 9. PMID: 26100153.
3. Ткачева, Ю. А. Особенности отодектозной инвазии у безнадзорных кошек в городе Тюмени / Ю. А. Ткачева, Л. А. Глазунова // *АПК: инновационные технологии*. – 2021. – № 2. – С. 24-31. – EDN GKWFYF. Режим доступа: https://elibrary.ru/download/elibrary_46299919_68352181.pdf
4. Глазунова Л.А., Ткачева Ю.А., Глазунов Ю.В. Особенности ктеноцефалидоза среди безнадзорных собак в городе Тюмени. *Международный вестник ветеринарии*. 2024;(2):65-72. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2024.2.65>
5. Столбова, О. А. Заболевания кожи различной этиологии у собак / О. А. Столбова // *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. – 2021. – № 22. – С. 504-508. – DOI 10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.504-508. – EDN KKQZVC.
6. Прохорова, И. А. Эпидемиологическое значение блох, вшей и власоедов на территории Костромской области / И. А. Прохорова, О. В. Остапчук // *Вестник Костромского государственного университета им. Н.А. Некрасова*. – 2014. – Т. 20, № 6. – С. 36-38. – EDN ТНННТФ. Режим доступа: https://elibrary.ru/download/elibrary_22907324_14869363.pdf
7. Прохорова, И. А. Разработка современных средств профилактики и лечения паразитарных болезней плотоядных / И. А. Прохорова // *Российский паразитологический журнал*. – 2010. – № 2. – С. 119-123. – EDN MVPVOB. Режим доступа: https://elibrary.ru/download/elibrary_15245121_71932351.pdf
8. Домацкий, В. Н. Эффективность акарицидов при отодектозе кошек / В. Н. Домацкий, Е. В. Алексеева // *АПК: инновационные технологии*. – 2021. – № 4. – С. 22-26. – EDN JEVVKU. Режим доступа: https://elibrary.ru/download/elibrary_47416385_67009103.pdf
9. Точиева, О. Н. Изучение эффективности препаратов на основе комбинации имидаклоприда, пирипроксифена, моксидектина при эктопаразитах у собак и кошек / О. Н. Точиева, М. В. Арисов // *Теория и практика борьбы с паразитарными болез-*

нями. – 2022. – № 23. – С. 459-464. – DOI 10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.459-464. – EDN TOECFR.

10. Елизарова, Е. А. Клиническое проявление интоксикации у собак препаратом «Неотерика Протекто» / Е. А. Елизарова, Г. Д. Тушина, А. В. Кляпнев // Вестник Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии. – 2023. – № 1 (37). – С. 33-36. – EDN SZJDIN. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=51987213>

11. Ткачева, Ю. А. Функциональное состояние собак и кошек при эктопаразитазах в Северном Зауралье / Ю. А. Ткачева, Ю. В. Глазунов // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2020. – № 2 (59). – С. 101-108. – DOI 10.34655/bgsha.2020.59.2.014. – EDN SQNFQL.

12. Биохимия печени и лабораторная оценка ее физиолого-биохимического состояния: учебно-методическое пособие / О. С. Белоновская, А. А. Лисицына, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. – 116 с. – EDN VNEEQL. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25552302>

13. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р. У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.

14. Арахноэнтомозы мелких домашних животных / Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, В. А. Ширяева [и др.]. – Санкт-Петербург: Периферия, 2020. – 99 с. – EDN ENEPLN. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48232434>

REFERENCES

1. Frantz L.A.F., Bradley, D.G., Larson, G. et al. Animal domestication in the era of ancient genomics. *Nat Rev Genet* 21, 449–460 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41576-020-0225-0>

2. Otranto D. Diagnostic challenges and the unwritten stories of dog and cat parasites /

D. Otranto // *Veterinary Parasitology*. – 2015. – Т. 212, No. 1-2. – P. 54-61. Otranto D. Diagnostic challenges and the unwritten stories of dog and cat parasites. *Vet Parasitol.* 2015 Aug 15;212(1-2):54-61. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.06.002. Epub 2015 Jun 9. PMID: 26100153.

3. Tkacheva, Yu. A. Features of otodectosis invasion in stray cats in the city of Tyumen / Yu. A. Tkacheva, L. A. Glazunova // *APK: innovative technologies*. – 2021. – No. 2. – P. 24-31. – EDN GKWFYF. Access mode: https://elibrary.ru/download/elibrary_46299919_68352181.pdf (In Russ.)

4. Glazunova L.A., Tkacheva Yu.A., Glazunov Yu.V. Features of ctenocephalidosis among stray dogs in the city of Tyumen. *International Veterinary Bulletin*. 2024; (2):65-72. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2024.2.65> (In Russ.)

5. Stolbova, O. A. Skin diseases of various etiologies in dogs / O. A. Stolbova // *Theory and practice of combating parasitic diseases*. – 2021. – No. 22. – P. 504-508. – DOI 10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.504-508. – EDN KKQZVC. (In Russ.)

6. Prokhorova, I. A. Epidemiological significance of fleas, lice and lice in the Kostroma region / I. A. Prokhorova, O. V. Ostapchuk // *Bulletin of the Kostroma State University named after N.A. Nekrasov*. – 2014. – Vol. 20, No. 6. – P. 36-38. – EDN THHHTF. Access mode: https://elibrary.ru/download/elibrary_22907324_14869363.pdf (In Russ.)

7. Prokhorova, I. A. Development of modern means of prevention and treatment of parasitic diseases of carnivores / I. A. Prokhorova // *Russian Parasitological Journal*. – 2010. – No. 2. – P. 119-123. – EDN MVPVOB. Access mode: https://elibrary.ru/download/elibrary_15245121_71932351.pdf (In Russ.)

8. Domatsky, V. N. Efficiency of acaricides for otodectosis in cats / V. N. Domatsky, E. V. Alekseeva // *APK: innovative technologies*. – 2021. – No. 4. – P. 22-26. – EDN JEV-VKU. Access mode: https://elibrary.ru/download/elibrary_47416385_67009103.pdf (In Russ.)

9. Tochieva, O. N. Study of the effectiveness of drugs based on a combination of im-

- idacloprid, pyriproxyfen, moxidectin for ectoparasitoses in dogs and cats / O. N. Tochieva, M. V. Arisov // *Theory and practice of combating parasitic diseases*. – 2022. – No. 23. – P. 459-464. – DOI 10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.459-464. – EDN TOECFR. (In Russ.)
10. Elizarova, E. A. Clinical manifestation of intoxication in dogs with the drug "Neoterik Protecto" / E. A. Elizarova, G. D. Tushina, A. V. Klyapnev // *Bulletin of the Nizhny Novgorod State Agricultural Academy*. – 2023. – No. 1 (37). – P. 33-36. – EDN SZJDIN. Access mode: <https://elibrary.ru/item.asp?id=51987213> (In Russ.)
11. Tkacheva, Yu. A. Functional state of dogs and cats with ectoparasitoses in the Northern Trans-Urals / Yu. A. Tkacheva, Yu. V. Glazunov // *Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Filippov*. – 2020. – No. 2 (59). – P. 101-108. – DOI 10.34655 / bgsha.2020.59.2.014. – EDN SQNFQL. (In Russ.)
12. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: a teaching aid / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. – Saint Petersburg: Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. – 116 p. – EDN VNEEQL. Access mode: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25552302> (In Russ.)
13. Guide to experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / edited by Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, Professor R. U. Khabriev. Moscow: Medicine, 2005. 832 p. (In Russ.)
14. Arachnoentomoses of small domestic animals / L. M. Belova, N. A. Gavrilova, V. A. Shiryayeva [et al.]. – Saint Petersburg: Peripheria, 2020. – 99 p. – EDN ENEPLN. Access mode: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48232434> (In Russ.)



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 619:615.281:636.5

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.96

ПРИМЕНЕНИЕ ФИТОБИОТИКА НА ОСНОВЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Лыско С.Б.* – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. (ORCID ID 0009-0007-0086-6487); **Гофман А.А.** – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0009-0006-3645-9923); **Задорожная М.В.** – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0009-0005-8607-1794); **Сунцова О.А.** – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0009-0001-8729-0850); **Власенко В.С.** – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-8351-2818)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр»

* vet@subniip.ru

Ключевые слова: фитобиотик, эфирные масла, иммунитет, лимфоциты, цыплята-бройлеры, вакцинация.

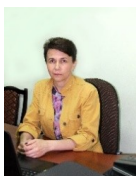
Keywords: phytobiotic, essential oils, immunity, lymphocytes, broiler chickens, vaccination.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект FNUN-2022-0036)

Поступила: 20.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

В условиях промышленного птицеводства на организм сельскохозяйственной птицы негативное влияние оказывают многочисленные стресс-факторы, что ведёт к развитию иммунодефицитных состояний, повышает восприимчивость к инфекционным заболеваниям, снижает сохранность и продуктивность поголовья. В связи с чем, для птицеводства весьма актуальным является применение иммунокорректирующих препаратов. Целью исследования являлось изучение эффективности применения фитобиотика на основе комплекса эфирных масел корицы, гвоздики, розмарина лекарственного, тимьяна и кунжута индийского для повышения клеточного и гуморального иммунитета птицы. Исследования проводили на цыплятах-бройлерах кросса «Смена 9» из которых в суточном возрасте комплектовали контрольную и опытную группы по 70 голов в каждой. Цыплята опытной группы получали фитопрепарат в дозе 0,2 мл/л воды с 1-го по 7-й день выращивания и 0,3 мл/л воды – с 8-го по 38-й день. В возрасте 9 дней проведена вакцинация птицы против вируса Ньюкаслской болезни. На основании результатов исследований установлено, что использование препарат на основе эфирных масел повышает адаптационные способности

цыплят-бройлеров после вакцинации, снижает негативные последствия стресс-факторов (биологический, технологический) на организм, активизирует клеточный и гуморальный иммунитет. Большее влияние фитобиотик оказал на показатели клеточного иммунитета, о чём свидетельствовало повышение содержания лимфоцитов в 1,8 раза, Т-лимфоцитов – в 2,9 раза, В-лимфоцитов – в 1,7 раза, катионных белков – на 40,3-85,6%, уровня спонтанной и стимулированной НСТ-активности нейтрофилов – на 37,3-49,0%. Применение препарата способствовало повышению среднего титра поствакцинальных антител к вирусу Ньюкаслской болезни на $0,5-0,8 \log_2$.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Здоровье и продуктивность сельскохозяйственной птицы во многом зависит от состояния её иммунной системы. Защитные механизмы цыплёнка начинают формироваться ещё в эмбриогенезе, но окончательное становление органов иммунитета и иммунной системы у птиц происходит в первые две недели постэмбрионального периода [1]. В условиях промышленного выращивания негативное влияние на организм птиц, и в первую очередь на работу иммунной системы, оказывают многочисленные стресс-факторы: биологические (вакцинации, патогенная и условно-патогенная микрофлора); кормовые (микротоксины, недостаток питательных веществ и др.); физические (температура и др.), технологические, химические, травматические, транспортные. Это ведёт к развитию иммунодефицитных состояний, повышает восприимчивость птицы к инфекционным заболеваниям, снижает эффективность вакцинаций, сохранность и продуктивность поголовья [2]. В связи с чем, для птицеводства весьма актуальным является применение иммунокорректирующих препаратов. Примером таких средств могут быть препараты, изготовленные на основе растительного сырья. Преимуществом фитобиотиков является их натуральность и экологичность, а также многофункциональное действие на организм, за счёт содержания в них большого количества природных биологически активных веществ [3, 4]. Так флавоноиды, гликозиды, полисахариды, терпеноиды, эфирные масла, горечи и алкалоиды, входящие в их состав, оказывают иммуномодулирующее действие на организм [5]. В научной литературе имеются сведения о положительном влиянии эфирных масел на иммунную систему птиц за

счёт активизации клеточного иммунитета, повышения уровней иммуноглобулинов, увеличения экспрессии генов интерлейкинов [6, 7, 8]. Показано, что использование некоторых эфирных масел в сочетании с программами вакцинации против вирусов гриппа птиц, Ньюкаслской болезни, инфекционного бурсальной болезни повышает выработку антител [9, 10].

Цель нашего исследования являлось изучение эффективности применения отечественного фитобиотика на основе комплекса эфирных масел для повышения клеточного и гуморального иммунитета цыплят-бройлеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили в 2024 году в отделе ветеринарии сельскохозяйственной птицы ФГБНУ «Омский АНЦ» и на базе птицеводческого хозяйства Омской области на цыплятах-бройлерах отечественного кросса «Смена 9». По принципу аналогов в суточном возрасте были скомплектованы контрольная и опытная группы по 70 голов в каждой. Продолжительность исследования составила 38 дней. Цыплята опытной группы весь период выращивания получали отечественный фитопрепарат, состоящий из комплекса эфирных масел корицы, гвоздики, розмарина лекарственного, тимьяна и кунжута индийского. Фитобиотик применяли с водой в дозе 0,2 мл/л воды с 1-го по 7-й день выращивания и 0,3 мл/л воды – с 8-го по 38-й день. В возрасте 9 дней проведена вакцинация всей птицы против вируса Ньюкаслской болезни (НБ) живой вакциной из штамма «Ла-Сота» (НПП «Авивак») интраназальным методом. Для изучения показателей клеточного и гуморального иммунитета проводили отбор проб крови у птиц до вакцинации, а также

через 4, 18 и 29 дней после неё, что соответствовало периоду начала и окончания иммунологической перестройки в организме после введения антигена.

Общее количество лимфоцитов определяли в мазках крови, окрашенных по Паппенгейму. Содержание Т-лимфоцитов определяли с помощью теста спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана, В-лимфоцитов – в реакции комплементарного розеткообразования с эритроцитами быка. Кислородзависимую метаболическую активность нейтрофилов оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в спонтанном и стимулированном вариантах. Кислороднезависимую активность нейтрофилов оценивали определением лизосамальных катионных белков (КБ) в реакции с бромфеноловым синим по методу М.Г. Шубича. Бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) изучали по методу О.В. Смирнова и Т.А. Кузьмина. Титр поствакцинальных антител и количество иммунной птицы к вирусу НБ устанавливали в реакции торможения гемагглютинации с использованием наборов ФГБУ «ВНИИЗЖ». Статистическую обработку данных исследований проводили с применением программы Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics.v23.1. Статистически значимой считалась разница при $p < 0,05-0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

По содержанию иммунокомпетентных клеток в крови цыплят до проведения вакцинации достоверной разницы между контрольной (к) и опытной (о) группой не выявлено, показатели были сопоставимы (рисунок 1). Через 4 дня после введения антигена в крови цыплят опытной группы регистрировали повышение содержания общего количества лимфоцитов в 1,8 раза ($p < 0,001$), Т-лимфоцитов – в 2,9 раза ($p < 0,001$) и В-лимфоцитов – в 1,7 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Необходимо отметить, что в контрольной группе отмечали достоверное снижение содержание лимфоцитов в 1,3 раза ($p < 0,05$), Т-лимфоцитов – в 1,8 раза ($p < 0,05$) и тенденцию к уменьшению В-

лимфоцитов по сравнению с показателями до вакцинации, что можно связать с отрицательным воздействием на иммунную систему стресс-факторов (биологический – вакцинация и технологический – отлов птицы для вакцинации). При этом в крови птицы опытной группы наблюдали повышение всех изучаемых иммунокомпетентных клеток в 1,3-1,4 раза. Через 18 дней после вакцинации отмечали тенденцию повышения иммунокомпетентных клеток в крови птицы опытной группы со статистически значимым увеличением Т-лимфоцитов (в 1,6 раза, $p < 0,01$), отвечающих за клеточный иммунитет.

Таким образом, применение исследуемого фитобиотика повышало адаптационные способности птицы после введения вакцины и снижало негативные последствия вакцинального стресса на иммунную систему.

Установлено усиление кислородзависимой метаболической активности нейтрофилов крови цыплят опытной группы по сравнению с контрольной на протяжении всего периода исследования: повышение спонтанной и стимулированной НСТ-активности до вакцинации на 48,2 ($p < 0,01$) и 37,3% ($p < 0,05$), через 4 дня после вакцинации – на 44,4 и 49,0% ($p < 0,001$) и через 18 дней – на 15,1% ($p < 0,01$) и 13,3% ($p < 0,01$) соответственно (рисунок 2).

На стимуляцию антимикробных систем при применении фитобиотика указывала и активизация кислороднезависимой фагоцитарной активности нейтрофилов крови цыплят опытной группы – повышении содержания КБ в на протяжении всего опыта, при наибольшей разнице с контрольной группой через 4 и 18 дней после вакцинации – на 85,6 и 40,3% ($p < 0,001$).

Полученные нами данные о стимулирующем влиянии эфирных масел на клеточный иммунитет птицы, согласуются с данными других исследователей. Использование цыплятам-бройлерам наноэссенции эфирного масла розмарина в дозе 200 мг/кг корма повышает уровень

лимфоцитов и нейтрофилов в крови [11], а смеси эфирных масел цитронеллола, тимола и транс-коричного альдегида значительно повышает уровень фагоцитарной активности лейкоцитов [12].

О положительном влиянии изучаемого комплекса эфирных масел на гумо-

ральный иммунитет свидетельствовало повышение бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) у цыплят-бройлеров опытной группы по сравнению с контролем на 11,3-24,1%, при статистически значимой разнице через 4 и 29 дней после вакцинации (таблица 1).

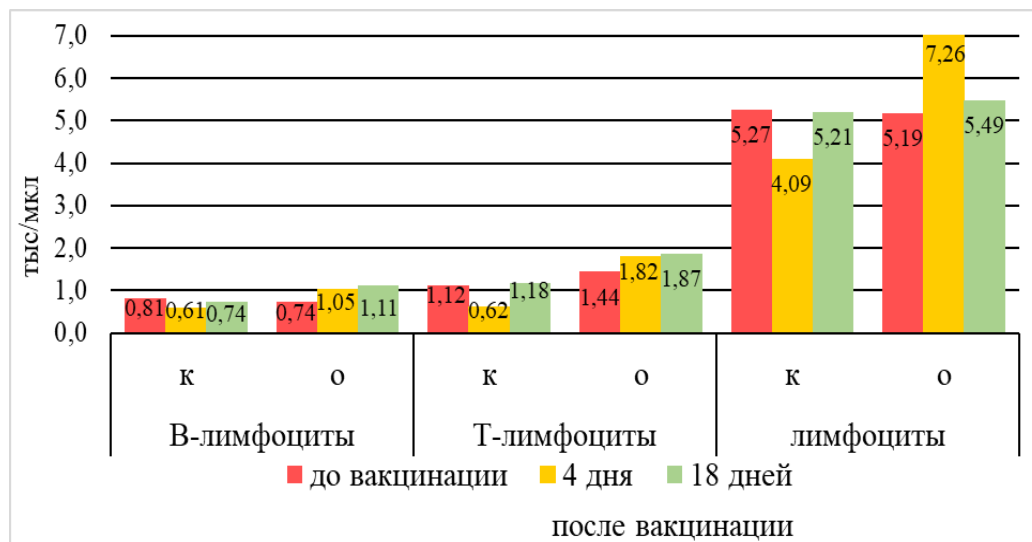


Рисунок 1 – Содержание иммунокомпетентных клеток в крови цыплят-бройлеров при применении фитобиотика.

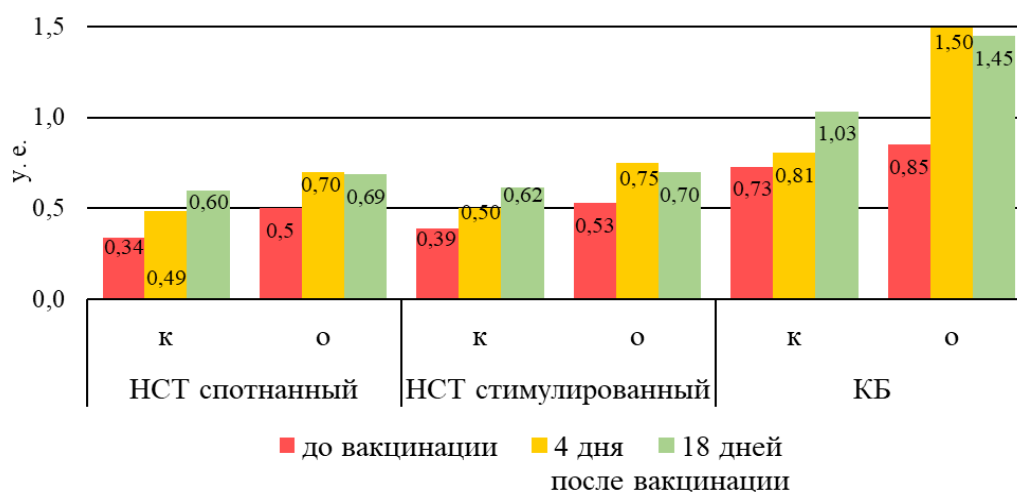


Рисунок 2 – Фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов крови цыплят-бройлеров при применении фитобиотика.

Таблица 1 – Бактерицидная активность сыворотки крови цыплят-бройлеров при применении фитобиотика

Группа	Период после вакцинации, дней		
	4	8	29
Контрольная	24,9±3,3	61,7±5,5	44,7±3,2
Опытная	43,9±5,1*	73,0±4,0	68,8±4,7**

Различия с контролем достоверны при: * $p<0,05$; ** $p<0,01$.

Таблица 2 – Показатели адаптивного иммунитета цыплят-бройлеров после вакцинации против НБ при применении фитобиотика

Период после вакцинации, дней	Средний титр поствакцинальных антител, $\log_2$		Количество иммунной птицы, %	
	контрольная	опытная	контрольная	опытная
18	3,9±0,56	4,4±0,81	56,3	62,5
29	4,0±0,63	4,8±0,45	62,5	81,2

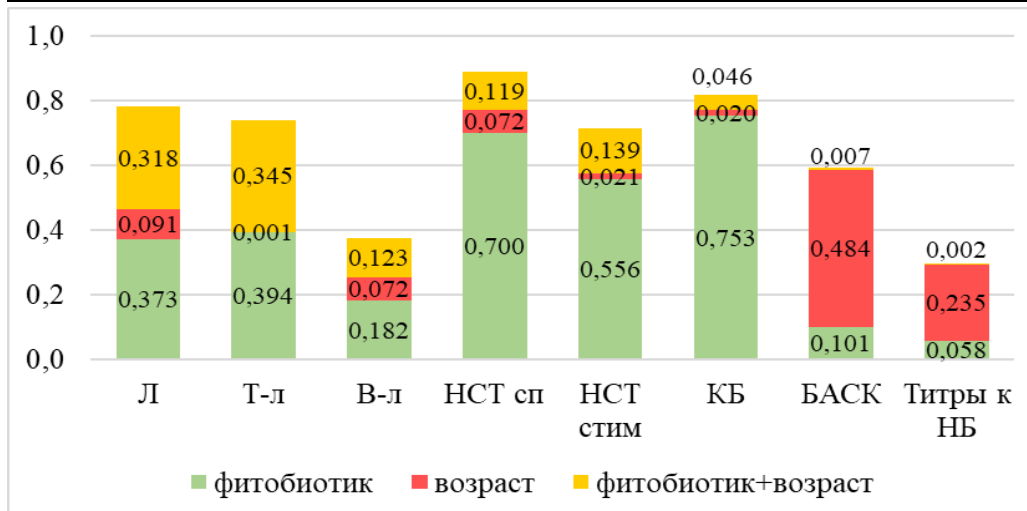


Рисунок 3 – Доли влияния фитобиотика и возраста на иммунитет цыплят-бройлеров.

На стимуляцию адаптивного гуморального иммунитета у цыплят-бройлеров опытной группы указывало повышение среднего титра поствакцинальных антител к вирусу Ньюкаслской болезни на 0,5-0,8 $\log_2$ и количества иммунной птицы на 6,2-18,7% по сравнению с контролем (таблица 2).

Ряд исследователей также сообщают о статистически значимом повышении титров поствакцинальных антител к вирусу Ньюкаслской болезни у цыплят-бройлеров

при применении следующих эфирных масел: Шропоцветника ароматного и розмарина в дозах 100 и 200 мг/кг корма [13]; орегано в концентрации 50 мл/1000 л питьевой воды [14]; коммерческой смеси эфирных масел [15].

Дисперсионным анализом нами было выявлено, что наибольшее действие организованных факторов (фитобиотик, возраст птицы, фитобиотик+возраст) наблюдалось в отношении содержания катионных белков, НСТ-тестов спонтанного и

стимулированного, лимфоцитов, Т-лимфоцитов ($\eta^2=0,716\div0,890$; $p=0,000$), и в меньшей – на количество В-лимфоцитов, БАСК и титры поствакцинальных антител к НБ ($\eta^2=0,295\div0,592$; $p=0,008-0,05$) (рисунок 3).

Действие фактора фитобиотик было преобладающим на содержание КБ, НСТ-тестов ($\eta^2=0,556\div0,753$; $p=0,000$), отвечающих за метаболическую активность лейкоцитов и не зависело от вакцинации. На количество лимфоцитов и Т-лимфоцитов применение фитобиотика оказывало стимулирующее воздействие ($\eta^2=0,373\div0,394$; $p=0,000$), но во многом сила его влияния была связана с возрастом ($\eta^2=0,318\div0,345$; $p=0,000$). На показатели гуморального иммунитета (БАСК, титры поствакцинальных антител к НБ) большее влияние оказал возраст птицы ($p=0,000$), но применение фитонцида позволило поддерживать их на более высоком уровне у цыплят опытной группы. Таким образом, установлено более выраженное действие фитобиотика на клеточный иммунитет, по сравнению с действием на гуморальный.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Применение фитобиотика на основе комплекса эфирных масел повышает адаптационные способности цыплят-бройлеров после вакцинации, снижает негативные последствия стресс-факторов (биологический, технологический) на организм, стимулирует клеточный и гуморальный иммунитет. Большее влияние фитобиотик оказал на показатели клеточного иммунитета, повышая содержание лимфоцитов в 1,8 раза, Т-лимфоцитов – в 2,9 раза, В-лимфоцитов – в 1,7 раза, катионных белков – на 40,3-85,6%, спонтанный и стимулированный НСТ-тест – на 37,3-49,0%. Использование препарата способствовало повышению среднего титра поствакцинальных антител к вирусу Ньюкаслской болезни на 0,5-0,8 $\log_2$.

THE USE OF PHYTOBIOTICS BASED ON ESSENTIAL OILS TO ENHANCE THE IMMUNE STATUS OF BROILER CHICKENS

Lysko S.B.* – Doctor of Veterinary Sciences, Chief Researcher (ORCID 0009-0007-0086-6487); **Hoffman A.A.** – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID 0009-0006-3645-9923); **Zadorozhnaya M.V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID 0009-0005-8607-1794); **Suntsova O.A.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher (ORCID 0009-0001-8729-0850); **Vlasenko V.S.** – Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher (ORCID 0000-0001-8351-2818)

Federal State Budget Scientific Institution «Omsk Agrarian Scientific Center»

* vet@subniip.ru

ABSTRACT

In the conditions of industrial poultry farming, the body of poultry is negatively affected by numerous stress factors, which leads to the development of immunodeficiency conditions, increases susceptibility to infectious diseases, reduces the safety and productivity of livestock. In this regard, the use of immunocorrecting drugs is very relevant for poultry farming. The aim of the study was to study the effectiveness of using a phytobiotic based on a complex of essential oils of cinnamon, cloves, rosemary, thyme and sesame seeds to enhance cellular and humoral immunity of poultry. The studies were carried out on broiler chickens of the «Smena 9» cross, of which control and experimental groups of 70 heads each were completed at the age of one day. The chickens of the experimental group received phytopreparation in a dose of 0,2 ml/l of water from the 1st to the 7th day of cultivation and 0,3 ml/l of water from the 8th to the 38th day. At the age of 9 days, poultry was vaccinated against the Newcastle disease virus. Based on the research results, it has been established that the use of a preparation based on essential oils increases the adaptive abilities of broiler chickens after vaccination, reduces the negative effects of stress factors (biological, technological) on the body, activates cellular and humoral immunity. The phytobiotic had a greater effect on cellular

immunity, as evidenced by an increase in the content of lymphocytes by 1,8 times, T-lymphocytes – by 2,9 times, B-lymphocytes by – 1,7 times, cationic proteins – by 40,3-85,6%, and the level of spontaneous and stimulated HCT activity of neutrophils by 37,3-49,0%. The use of the drug contributed to an increase in the average titer of post-vaccination antibodies to the Newcastle disease virus by 0,5-0,8 log².

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дубровин А.В., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А и др. Иммунный статус промышленной птицы на предприятиях: обзор. Птицеводство. 2022;5:49-54. <https://doi.org/10.33845/0033-3239-2022-71-5-49-54>.
2. Кавтарашвили А.Ш., Колокольникова Т.Н. Физиология и продуктивность птицы при стрессе (обзор). Сельскохозяйственная биология. 2010;4: 25-37. <https://agrobiology.ru/4-2010kavtarashvili.html>
3. Петруша Ю.К., Лебедев С.В., Гречкина В.В. Фитобиотики в кормлении сельскохозяйственной птицы. Животноводство и кормопроизводство. 2022;105(1):103-118. DOI 10.33284/2658-3135-105-1-103 <https://elibrary.ru/item.asp?id=48317084>
4. Залюбовская Е.Ю., Мансурова М.С. Эффективность использования фитогенных кормовых добавок в птицеводстве. Птица и птицепродукты. 2022; 3:44-46. DOI 10.30975/2073-4999-2022-24-3-44-46 <https://elibrary.ru/contents.asp?id=48683115>
5. Tiwari R., Latheef S.K., Ahmed I. et al. Herbal Immunomodulators - A Remedial Panacea for Designing and Developing Effective Drugs and Medicines: Current Scenario and Future Prospects. Current Drug Metabolism. 2018;19(3):264-301. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180129125436>
6. Saleh N., Allam T., El-latif A.A., Ghazy E. The effects of dietary supplementation of different levels of thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale*) essential oils on performance, hematological, biochemical and immunological parameters of broiler chickens. Global Veterinaria. 2014;12(6):736-744. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180129125436>
7. Krishan G., Narang A. Use of essential oils in poultry nutrition: a new approach. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research. 2014;1(4):156-162. <http://dx.doi.org/10.5455/javar.2014.a36>
8. Laptev G.Y., Yildirim E.A., Ilina L.A. et al. Effects of essential oils-based supplement and salmonella infection on gene expression, blood parameters, cecal microbiome, and egg production in laying hens. Animals. 2021;11(2):360. <http://dx.doi.org/10.3390/ani11020360>
9. Hesabi Nameghi, A., Edalatian O., Bakhshalinejad R. Effects of a blend of thyme, peppermint and eucalyptus essential oils on growth performance, serum lipid and hepatic enzyme indices, immune response and ileal morphology and microflora in broilers. Journal of animal physiology and animal nutrition. 2019;103(5):1388-1398. <https://doi.org/10.1111/jpn.13122>
10. Awaad M.H.H., Abdel-Alim G.A., Sayed K.S. et al. Immunostimulant effects of essential oils of peppermint and eucalyptus in chickens. Pakistan Veterinary Journal. 2010;30(2):P. 61-66.
11. Adil S., Banday M.T., Wani M.A. et al. Nano-protected form of rosemary essential oil has a positive influence on blood biochemistry parameters, haematological indices, immune-antioxidant status, intestinal microbiota and histomorphology of meat-type chickens. Poultry Science. 2024;103(12):104309. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104309>
12. El-Hamid M.I.A, El-Malt R.M.S., Al-Khalaifah H.S. et al. Exploring the interactive impacts of citronellol, thymol, and trans-cinnamaldehyde in broilers: moving toward an improved performance, immunity, gastrointestinal integrity, and *Clostridium perfringens* resistance. Journal of Applied Microbiology. 2024;135(10):lxae206. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae206>
13. Hosseinzadeh S., Shariatmadari F., Karimi M.A. et al. *Plectranthus amboinicus* and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils effects on performance, antioxidant activity, intestinal health, immune re-

sponse, and plasma biochemistry in broiler chickens. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 2023;11(7): 3939-3948. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3380>.

14. Abdulkadhim A.A., Mohammed Dughaim F., Ibrahim Ahmed A. Effect of Oregano Essential Oil Combined with Live and Killed Newcastle Disease Vaccines on Immune Response in Broilers Chicks in Erbil, Iraq: A Comparative Study. *Archives of Razi Institute*. 2022;77(3):1303-1309. <https://doi.org/10.22092/ari.2022.357614.2067>.

15. El -Shall N.A., Shewita R.S., Abd El-Hack M.E. et al. Effect of essential oils on the immune response to some viral vaccines in broiler chickens, with special reference to Newcastle disease virus. *Poultry Science*. 2020;99(6):2944-2954. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.03.008>.

REFERENCES

1. Dubrovin A.V., Jyldyrym E.A., Il'ina L.A. i dr. Immunnyj status promyshlennoj pticy na predpriyatiyah: obzor. *Pticevodstvo*. 2022;5:49-54. <https://doi.org/10.33845/0033-3239-2022-71-5-49-54>.
2. Kavtarashvili A.SH., Kolokol'nikova T.N. Fiziologiya i produktivnost' pticy pri stresse (obzor). *Sel'skohozyajstvennaya biologiya*. 2010;4: 25-37. <https://agrobiology.ru/4-2010kavtarashvili.html>
3. Petrusha YU.K., Lebedev S.V., Grechkina V.V. Fitobiotiki v kormlenii sel'skohozyajstvennoj pticy. *ZHivotnovodstvo i kormoprodukcija*. 2022;105(1):103-118. DOI 10.33284/2658-3135-105-1-103 <https://elibrary.ru/item.asp?id=48317084>
4. Zalyubovskaya E.YU., Mansurova M.S. Effektivnost' ispol'zovaniya fitogennyh kormovyh dobavok v pticevodstve. *Ptica i pticeprodukty*. 2022; 3:44-46. DOI 10.30975/2073-4999-2022-24-3-44-46 <https://elibrary.ru/contents.asp?id=48683115>
5. Tiwari R., Latheef S.K., Ahmed I. et al. Herbal Immunomodulators - A Remedial Panacea for Designing and Developing Effective Drugs and Medicines: Current Scenario and Future Prospects. *Current Drug Metabolism*. 2018;19(3):264-301. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180129125>

436

6. Saleh N., Allam T., El-latif A.A., Ghazy E. The effects of dietary supplementation of different levels of thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale*) essential oils on performance, hematological, biochemical and immunological parameters of broiler chickens. *Global Veterinaria*. 2014;12(6):736-744. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180129125>

436.

7. Krishan G., Narang A. Use of essential oils in poultry nutrition: a new approach. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2014;1(4):156-162. <http://dx.doi.org/10.5455/javar.2014.a36>

8. Laptev G.Y., Yildirim E.A., Ilina L.A. et al. Effects of essential oils-based supplement and salmonella infection on gene expression, blood parameters, cecal microbiome, and egg production in laying hens. *Animals*. 2021;11(2):360. <http://dx.doi.org/10.3390/ani11020360>

9. Hesabi Nameghi, A., Edalatian O., Bakhshalinejad R. Effects of a blend of thyme, peppermint and eucalyptus essential oils on growth performance, serum lipid and hepatic enzyme indices, immune response and ileal morphology and microflora in broilers. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 2019;103(5):1388-1398. <https://doi.org/10.1111/jpn.13122>

10. Awaad M.H.H., Abdel-Alim G.A., Sayed K.S. et al. Immunostimulant effects of essential oils of peppermint and eucalyptus in chickens. *Pakistan Veterinary Journal*. 2010;30(2):R. 61-66.

11. Adil S., Banday M.T., Wani M.A. et al. Nano-protected form of rosemary essential oil has a positive influence on blood biochemistry parameters, haematological indices, immune-antioxidant status, intestinal microbiota and histomorphology of meat-type chickens. *Poultry Science*. 2024;103(12):104309. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104309>.

12. El-Hamid M.I.A., El-Malt R.M.S., Al-Khalaifah H.S. et al. Exploring the interactive impacts of citronellol, thymol, and trans-cinnamaldehyde in broilers: moving toward an improved performance, immunity, gastro-

intestinal integrity, and *Clostridium perfringens* resistance. *Journal of Applied Microbiology*. 2024;135(10):lxae206. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae206>.

13. Hosseinzadeh S., Shariatmadari F., Karimi M.A. et al. *Plectranthus amboinicus* and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils effects on performance, antioxidant activity, intestinal health, immune response, and plasma biochemistry in broiler chickens. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 2023;11(7): 3939-3948. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3380>.

14. Abdulkadhim A.A., Mohammed Dughaim F., Ibrahim Ahmed A. Effect of

Oregano Essential Oil Combined with Live and Killed Newcastle Disease Vaccines on Immune Response in Broilers Chicks in Erbil, Iraq: A Comparative Study. *Archives of Razi Institute*. 2022;77(3):1303-1309. <https://doi.org/10.22092/ari.2022.357614.2067>.

15. El -Shall N.A., Shewita R.S., Abd El-Hack M.E. et al. Effect of essential oils on the immune response to some viral vaccines in broiler chickens, with special reference to Newcastle disease virus. *Poultry Science*. 2020;99(6):2944-2954. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.03.008>.

УДК: 591.111.7:636.5.034:615.33
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.2.105

МЕМБРАННЫЙ РЕЗЕРВ ЭРИТРОЦИТОВ УТЯТ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Присный А.А.^{1*} – д-р биол. наук, глав. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5229-4576); Гребцова Е.А.² – канд. биол. наук, доц. каф. биологии (ORCID 0009-0007-0768-0490); Скворцов В.Н.¹ – д-р ветеринар. наук, руководитель (ORCID 0000-0002-9629-0000); Кравцова А.Р.¹ – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1340-8024)

¹ ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН» Белгородского филиала ВИЭВ

² ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

*andreypisny@gmail.com

Ключевые слова: утята, кровь, эритроциты, стафилококк, ципрофлоксацин.

Key words: ducklings, blood, red blood cells, *Staphylococcus*, ciprofloxacin.

Поступила: 28.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Изучено влияние ципрофлоксацина на мембранный резерв и устойчивость эритроцитов утят к действию гипотонической среды в условиях экспериментального стафилококкоза. Высокая проницаемость мембраны эритроцитов для ципрофлоксацина может приводить к изменению устойчивости красных клеток крови к условиям пониженной осмолярности. В исследовании было задействовано три группы, состоящие из утят башкирской породы в возрасте 21 суток. Птиц группы III в течение пяти суток выпаивали ципрофлоксацином в дозировке 200 мг/л. Через сутки после начала выпаивания препаратом осуществляли внутрибрюшинное заражение групп II и III культурой *Staphylococcus aureus* в концентрации 5McF. Отбор крови методом внутрисердечной пункции проводили на 1-е, 3-и, 6-е, 9-е, и 13-е сутки после заражения. Для оценки устойчивости эритроцитов к среде с пониженной осмолярностью инкубировали цельную кровь в изотоническом растворе (0,93% NaCl), в гипотоническом растворе (0,33% NaCl), в соотношении 1:1 в течение 30 секунд. В мазках крови определены линейные параметры эритроцитов, рассчитаны площадь поверхности и объем клеток, показатели мембранного резерва. Относительный мембранный резерв эритроцитов птиц контрольной группы в условиях гипотонии был наибольшим по срав-

нению с опытными группами. Это связано с изначальным увеличением размеров клеток птиц группы II и III под воздействием альфа-токсина *St. aureus*. Эритроциты интактных утят демонстрируют максимальную интенсивность использования относительного мембранного резерва в гипотонической среде – ииMR% находится в диапазоне между 19,4% и 33%. Во второй и третьей группе среднее значение ииMR% мембраны составляет 17%. Привлечение поверхностных резервов плазмалеммы к регуляции размеров эритроцитов, а также изменения, связанные с транспортом ионов и воды, предотвращают гемолиз. Использование внутриклеточного мембранного бассейна позволяет регулировать объем ядер при агрессивном действии альфа-гемолизина и ципрофлоксацина.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Исследования осмотической хрупкости эритроцитов применяются для оценки физиологического состояния крови человека и млекопитающих, однако этот показатель практически не изучен у птиц. Современное птицеводство не может существовать без применения антимикробных препаратов, и одной из часто применяемых групп являются фторхинолоны.

Взаимодействие ряда антибактериальных препаратов: адриамицина [1], мефенамовой кислоты [2], нистатина [3] с клеточной мембраной эритроцита вызывает реакции окисления липидов, белков и углеводов, тем самым разрушая клеточную мембрану и повреждая саму клетку. Нарушение целостности плазмалеммы эритроцитов объясняется образованием крупных неселективных перфораций, которые приводят к повышению проницаемости мембраны и коллоидно-осмотическому гемолизу [4].

В работе Aslam H. продемонстрировано, что окислительный стресс, вызванный левофлоксацином, приводит к экстериоризации фосфатидилсерина на поверхности мембраны эритроцитов – данное явление завершается гемолизом [5]. Ципрофлоксацин не вызывает сдвигов в лейкоцитарной формуле у цыплят [6], но распределение фторхинолонов – ципрофлоксацина и норфлоксацина – по эритроцитам происходит очень быстро, вероятно, из-за высокой проницаемости мембраны эритроцитов для этих препаратов [4, 7].

Существенные отличия в методике проведения испытаний, в подходе к интерпретации данных у разных исследователей зачастую приводят к результатам, которые могут не согласовываться друг с другом. Устойчивость эритроцитов к ги-

поосмотической нагрузке чаще всего определяют через спектрофотометрическую оценку гемолиза. Однако уделено мало внимания механизмам резистентности эритроцитов птиц: изменению ионного транспорта и мембранному резерву. Как поверхностные запасы, так и эндомембраны могут обеспечивать простой механизм поддержания натяжения мембран ниже литического уровня во время понижения осмолярности среды.

Цель данной работы – исследовать влияние ципрофлоксацина на мембранный резерв и устойчивость эритроцитов утят к действию гипотонической среды в условиях экспериментального стафилококкоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для проведения исследования были сформированы три группы утят башкирской породы в возрасте 21 суток. Группа I являлась интактным контролем. Птиц группы III в течение пяти суток выпаивали ципрофлоксацином в дозировке 200 мг/л. Через сутки после начала выпаивания препаратом осуществлено внутрибрюшинное заражение групп II и III культурой *Staphylococcus aureus* в концентрации 5McF. Отбор крови методом внутрисердечной пункции проводили на 1-е, 3-е, 6-е, 9-е, и 13-е сутки после заражения. Отобранные пробы крови стабилизировали гепарином.

Для оценки устойчивости эритроцитов к среде с пониженной осмолярностью проводили инкубацию цельной крови в изотоническом растворе (0,93% NaCl), в гипотоническом растворе (0,33% NaCl), в соотношении 1:1 в течение 30 секунд. Готовили три группы мазков: из цельной крови, суспензии с изотоническим и гипо-

тоническим растворами после инкубации. В мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе, оценены размеры длинной и короткой осей клеток и их ядер. Определены площадь поверхности и объем эритроцитов с помощью следующих формул [8]:

$$\varepsilon = \sqrt{1 - \left(\frac{b}{a}\right)^2},$$

где ε – коэффициент эксцентриситеты эритроцита, a – величина длинной полуоси эритроцита, b – величина короткой полуоси эритроцита;

$$V = \frac{4}{3} \pi a b^2,$$

где V – объем эритроцита (μm^3);

$$S = 2\pi b \left(b + \frac{a}{\varepsilon} \arcsin \varepsilon\right),$$

где S – площадь поверхности эритроцита (μm^2).

Используя полученные значения площади и объема, вычисляли относительный мембранный резерв клеток в изотоническом и гипотоническом растворах:

$$MR = \frac{S_{г/изо} - S_{аут}}{V_{аут}},$$

где MR – относительный мембранный резерв (μm^{-1}), $S_{г/изо}$ – площадь поверхности эритроцита в гипотоническом или изотоническом растворах (μm^2), $S_{аут}$ – площадь поверхности эритроцита в аутологичной плазме (μm^2), $V_{аут}$ – объем эритроцита в аутологичной плазме (μm^3).

Интенсивность использования относительного мембранного резерва (и $MR\%$) эритроцитами в гипотонической среде оценивали, вычисляя процент относительного мембранного резерва, используемого клеткой от абсолютного мембранного резерва, принимаемого за 100%.

Статистическая обработка числовых данных включала расчет среднего значения (M) и стандартной ошибки среднего (m) с помощью программного обеспечения Microsoft Excel. Статистическую значимость различий оценивали с применением непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Инкубация эритроцитов в синтетических средах, имеющих тоничность, как у плазмы крови, приводит к изменению транспорта ионов и воды через плазмалемму, прежде чем клетки стабилизируются на новом более низком уровне устойчивого состояния [9]. Поэтому в первую очередь относительный мембранный резерв был оценен у эритроцитов, находившихся в изотоническом растворе.

Среднее значение относительного мембранного резерва эритроцитов контрольной группы равно 0,09. У клеток группы II показатель в первые сутки близок к контрольному, однако уже на 3-й день по мере развития инфекционного заболевания $MR_{отн(изо)}$ падает до 0 и не повышается до 9 суток. Такие изменения вызваны действием бактериального альфа-гемолизина на мембрану эритроцитов [10]. К девятому дню мембранный резерв возвращается к прежним значениям.

Выпаивание птиц группы III ципрофлоксацином могло вызвать увеличение размеров эритроцитов, это повлияло на поведение клеток в изотонической среде – их объем более не повышался, что выражается в нулевом значении мембранного резерва с первого по девятый день. К 13-м суткам размер эритроцитов вернулся к прежним значениям и мембранный резерв после инкубации в изотоническом растворе достиг 0,09.

Показатель относительного мембранного резерва эритроцитов птиц контрольной группы в условиях гипотонии был наибольшим по сравнению с опытными группами и равен 0,23.

У клеток группы II значение $MR_{отн}$ в гипотонической среде составляет в среднем 0,15, однако на третьи сутки его значение падает до 0,05. Это связано с увеличением размера эритроцитов под действием альфа-токсина, выделяемого *St. aureus*. Изначально крупные клетки в меньшей степени реагируют на действие гипотонической среды, что выражается в минимальных значениях $MR_{отн}$.

Относительный мембранный резерв эритроцитов группы III также составляет

в среднем 0,15, однако минимальные значения показателя зафиксированы на 9-е сутки после отмены препарата. В первые сутки $MR_{отн}$ ниже по сравнению с показателями контрольной группы на 42%, это может быть связано с действием антимикробного препарата. Ранее в экспериментах на эритроцитах человека было показано, что нахождение клеток в течение двух суток в присутствии ципрофлоксацина приводит к повышению размеров эритроцитов на 11% [11].

В заключительные экспериментальные сутки $MR_{отн}$ эритроцитов группы III и контроля уже не имел статистически значимых отличий и составлял 0,25 и 0,27 соответственно. У группы II данный параметр по-прежнему был ниже – 0,13, что связано с увеличенной площадью эритроцитов.

Эритроциты интактных утят демонстрируют максимальную интенсивность

использования относительного мембранного резерва в гипотонической среде – ииMR% находится в диапазоне между 19,4% и 33%. Во второй и третьей группе среднее значение ииMR% мембраны составляет 17%. При этом минимум – 5% зафиксирован для клеток группы II на 3-и сутки, а для группы III 4% на 9-й день.

Пребывание клеток в изотонической среде не привело к изменению мембранного резерва ядер по сравнению с аутологичной плазмой во всех экспериментальных группах.

Анализ значений $MR_{отн(гипо)}$ в парах «клетка-ядро» показал асинхронную реакцию этих двух элементов (рис. 1): увеличение мембранного резерва клетки сопровождалось нулевыми значениями данного показателя для ядра в первые, шестые и тринадцатые сутки. И, наоборот: на 3-й и 9-й день мембранный резерв клетки понижался, а у ядра увеличивался.

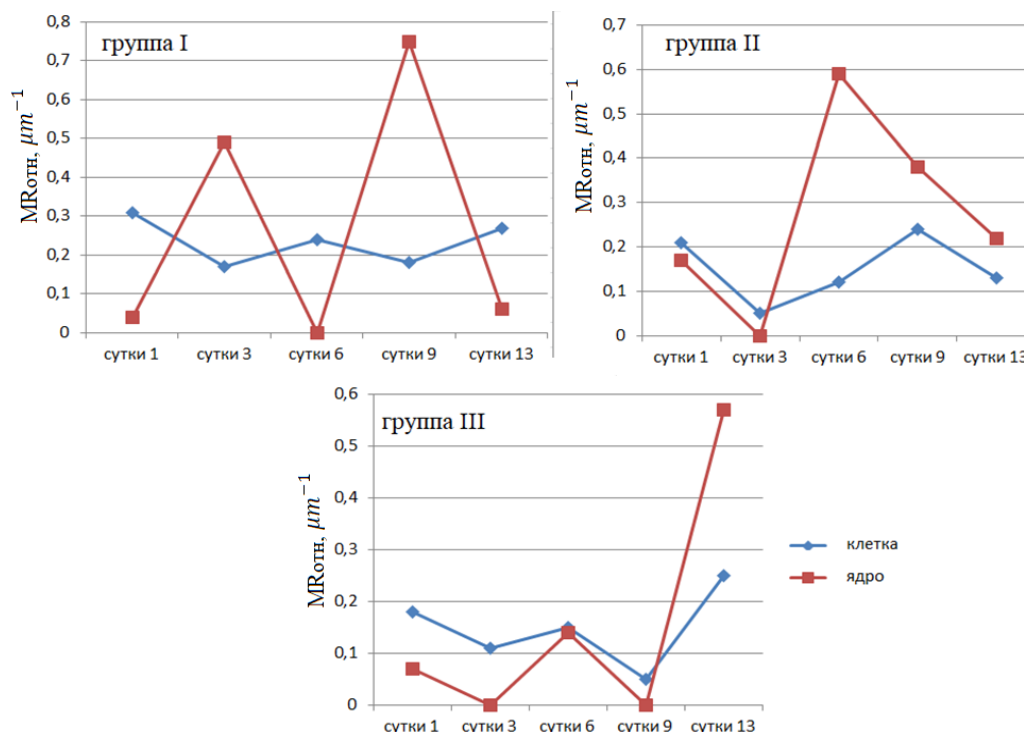


Рисунок 1 – Динамика относительного мембранного резерва клеток и ядер в гипотонической среде.

Эритроциты групп II и III характеризуются синхронной реакцией клетки и ядра в изменении $MR_{отн}$ в условиях гипотонической среды. Вероятно, альфа-токсин и ципрофлоксацин вызывают одновременные изменения в транспорте ионов и воды, как через наружную плазматическую мембрану, так и через кариолемму.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Выпаивание птиц группы III ципрофлоксацином приводит к уменьшению мембранного резерва по сравнению с контролем уже на первые сутки испытаний, а к девятому дню $MR_{отн}$ и вовсе достигает нулевых значений. Это может быть связано с совместным влиянием препарата и инфекционного заболевания. К 13-му дню значения $MR_{отн}$ (гипо) аналогичны контрольным.

В группе II также наблюдали постепенное снижение относительного мембранного резерва в гипотонической среде в условиях экспериментальной стафилококковой инфекции. На 9-е сутки значения $MR_{отн}$ (гипо) снова выросли до 0,24.

Привлечение поверхностных резервов плазмалеммы к регуляции размеров эритроцитов, а также изменения, связанные с транспортом ионов и воды, предотвращают гемолиз. Использование внутриклеточного мембранного бассейна позволяет регулировать объем ядер при агрессивном действии альфа-гемолизина и ципрофлоксацина.

THE MEMBRANE RESERVE OF DUCKLINGS' ERYTHROCYTES UNDER THE INFLUENCE OF CIPROFLOXACIN IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL STAPHYLOCOCCAL INFECTION

Prisnyi A.A.^{1*} – Dr. Biol. Sci., Principal Researcher FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0001-9380-4136); **Grebtsova E.A.**² – Kand. Biol. Sci., associate professor "Belgorod State National Research University" (ORCID 0009-0007-0768-0490); **Skvortsov V.N.**¹ – Dr. Vet. sci., Head of Belgorod Department of FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0002-9629-0000); **Kravtsova A.R.**¹ – Junior Researcher (ORCID 0000-0003-1340

-8024)

¹FGBNU "Federal Scientific Centre — All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of Russian Academy of Sciences"

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod State National Research University»

*andreyprisny@gmail.com

ABSTRACT

The effect of ciprofloxacin on the membrane reserve and resistance of ducklings' erythrocytes to hypotonic environment in experimental staphylococcosis was studied. The high permeability of the erythrocyte membrane to ciprofloxacin can lead to a change in the resistance of red blood cells to conditions of reduced osmolarity. The study involved three groups consisting of Bashkir ducklings aged 21 days. Group III birds were treated with ciprofloxacin at a dosage of 200 mg/l for five days. A day after the start of antibiotic treatment, intraperitoneal infection of groups II and III with *Staphylococcus aureus* culture at a concentration of 5McF was performed. Intracardiac puncture blood sampling was performed on the 1st, 3rd, 6th, 9th, and 13th days after infection. To assess the resistance of red blood cells to hypoosmotic pressure, blood was incubated in an isotonic solution (0.93% NaCl), in a hypotonic solution (0.33% NaCl), in a ratio of 1:1 during 30 seconds. Linear parameters of erythrocytes were determined in blood smears, surface area and volume, and indicators of membrane reserve were calculated. The relative membrane reserve of erythrocytes in birds of the control group in conditions of hypoosmolarity was the highest compared with the experimental groups. This is due to the initial increase in the size of bird cells of groups II and III under the influence of alpha-toxin *St. aureus*. The erythrocytes of intact ducklings demonstrate the maximum intensity of use of the relative membrane reserve in a hypotonic environment – iuMR% is in the range between 19.4% and 33%. In the second and third groups, the average

value of iuMR% of the membrane is 17%. The involvement of surface plasmalemma reserves in the regulation of red blood cell size, as well as changes associated with ion and water transport, prevent hemolysis. The use of an intracellular membrane pools makes it possible to regulate the volume of nuclei under the aggressive action of alpha-hemolysin and ciprofloxacin.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Malarkodi, K.P. Effect of lipoic acid on the oxidoreductive status of the red blood cells in rats subject to oxidative stress by chronic administration of adriamycin / K.P. Malarkodi, R. Siva Prasad, P. Varalakshmi // *Human and Experimental Toxicology*. – 2004. – V. 23. – P.129-135.
2. Ahmad, I Protective role of vitamin E on mefenamic acid-induced alterations in erythrocytes / I. Ahmad, M. Suhail // *Biochemistry*. – 2002. – V. 67. – P. 945-948.
3. Nagasawa, T. Coil planet centrifugal and capillary tube centrifugal analysis of factors regulating erythrocyte osmotic fragility and deformability / T. Nagasawa, S. Kojima, E. Kimura // *Japanese Journal of Physiology*. – 1982. – V. 32. – P. 25-33.
4. Colino, C.I. A comparative study of ofloxacin and ciprofloxacin erythrocyte distribution / C.I. Colino, A. García Turíño, A. Sanchez Navarro A., J.M. Lanao // *Biopharmaceutics and Drug Disposition*. – 1998. – V. 19(2). – P. 71-77.
5. Aslam, H.M. Levofloxacin induces erythrocyte contraction leading to red cell death / H.M. Aslam, A. Sohail, A. Shahid, M.A.B. Khan, M.U. Sharif, R. Kausar, M. Rasheed // *Drug Target Insights*. – 2024. – V. 18. – P. 78. <https://doi.org/10.33393/dti.2024.3060>.
6. Присный, А.А. Сравнительный анализ влияния фторхинолонов на лейкограмму крови цыплят / А.А. Присный, А.А. Моисеева, В.Н. Скворцов // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. – 2020. – № 2. – С. 11-24.
7. Dönmez, F. Investigation of the Effects of Three Different Generations of Fluoroquinolone Derivatives on Erythrocyte Fragility and Hematological Parameters in Rats / F. Dönmez, A. Doğan // *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*. – 2023. – V. 16(3). – P. 237-243. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.1330882>.
8. Патент С1 2350952 Российская федерация, МПК G01N 33/48. Способ определения реактивности эритроцитов крови / Липунова Е.А., Никитин В.М., Скоркина М.Ю. Заявитель и патентообладатель Белгородский гос. ун-т. – №2007124991/15, заявл. 03.09.2007. Опубликовано: 27.03.2009 – С. 1-12.
9. Kregenow, F.M. The Response of Duck Erythrocytes to Nonhemolytic Hypotonic Media / F.M. Kregenow // *Journal of General Physiology*. – 1971. – Vol. 58, № 4. – P. 372-395.
10. Berube, B. Staphylococcus aureus alpha-Toxin: nearly a century of intrigue / B. Berube, J. Wardenburg // *Toxins*. – 2013. – V. 5. – P. 1140-1166. doi:10.3390/toxins5061140.
11. Kashif, S. Triggering of erythrocyte membrane blebbing by ciprofloxacin / S. Kashif, J. Kashif, Z. Mohanad, A. Al-Farga, R. Muhammad, M.A. Shaikh, B. Ismat, I. Muhammad, A. Asma, A. Muhammad // *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. – 2019. – Vol. 76. – № 5. – P. 110772.

REFERENCES

1. Malarkodi, K.P. Effect of lipoic acid on the oxidoreductive status of the red blood cells in rats subject to oxidative stress by chronic administration of adriamycin / K.P. Malarkodi, R. Siva Prasad, P. Varalakshmi // *Human and Experimental Toxicology*. – 2004. – V. 23. – P.129-135.
2. Ahmad, I Protective role of vitamin E on mefenamic acid-induced alterations in erythrocytes / I. Ahmad, M. Suhail // *Biochemistry*. – 2002. – V. 67. – P. 945-948.
3. Nagasawa, T. Coil planet centrifugal and capillary tube centrifugal analysis of factors regulating erythrocyte osmotic fragility and deformability / T. Nagasawa, S. Kojima, E. Kimura // *Japanese Journal of Physiology*. – 1982. – V. 32. – P. 25-33.
4. Colino, C.I. A comparative study of ofloxacin and ciprofloxacin erythrocyte distribution / C.I. Colino, A. García Turíño, A. Sanchez Navarro A., J.M. Lanao // *Biopharmaceutics and Drug Disposition*. – 1998. – V.

- 19(2). – P. 71-77.
5. Aslam, H.M. Levofloxacin induces erythrocyte contraction leading to red cell death / H.M. Aslam, A. Sohail, A. Shahid, M.A.B. Khan, M.U. Sharif, R. Kausar, M. Rasheed // *Drug Target Insights*. – 2024. – V. 18. – P. 78. <https://doi.org/10.33393/dti.2024.3060>.
6. Prisnyi, A.A. Comparative analysis of the effect of fluoroquinolones on the blood leukogram of chickens / A.A. Prisnyi, A.A. Moiseeva, V.N. Skvortsov // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. – 2020. – № 2. – P. 11-24. (In Russ.)
7. Dönmez, F. Investigation of the Effects of Three Different Generations of Fluoroquinolone Derivatives on Erythrocyte Fragility and Hematological Parameters in Rats / F. Dönmez, A. Doğan // *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*. – 2023. – V. 16(3). – P. 237-243. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.1330882>.
8. Patent C1 2350952 Russian Federation, IPC G01N 33/48. Method for determining the reactivity of red blood cells / Lipunova E.A., Nikitin V.M., Skorkina M.Yu. Applicant and patent holder Belgorod State University – № 2007124991/15, application 03.09.2007. Published: 03/27/2009 – P. 1-12. (In Russ.)
9. Kregenow, F.M. The Response of Duck Erythrocytes to Nonhemolytic Hypotonic Media / F.M. Kregenow // *Journal of General Physiology*. – 1971. – Vol. 58, № 4. – P. 372-395.
10. Berube, B. Staphylococcus aureus alpha-Toxin: nearly a century of intrigue / B. Berube, J. Wardenburg // *Toxins*. – 2013. – V. 5. – P. 1140-1166. doi:10.3390/toxins5061140.
11. Kashif, S. Triggering of erythrocyte membrane blebbing by ciprofloxacin / S. Kashif, J. Kashif, Z. Mohanad, A. Al-Farga, R. Muhammad, M.A. Shaikh, B. Ismat, I. Muhammad, A. Asma, A. Muhammad // *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. – 2019. – Vol. 76. – № 5. – P. 110772.

УДК: 591.111.7:636.5.034:615.33

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.2.112

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ГРУПП СУЛЬФАНИЛАМИДОВ И НИТРОФУРАНОВ НА ЛЕЙКОГРАММУ КРОВИ ЦЫПЛЯТ

Присный А.А.^{1*} – д-р биол. наук, глав. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5229-4576); Потапова М.С.² – асп. каф. биологии (ORCID 0009-0000-4642-0412); Степанова Т.В.¹ – ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9092-8045); Кравцова А.Р.¹ – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1340-8024)

¹ ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) Белгородского филиала ВИЭВ

² ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

*andreyprisny@gmail.com

Ключевые слова: цыплята, кровь, лейкоциты, нитрофураны, сульфаниламиды.

Key words: chickens, blood, leukocytes, nitrofurans, sulfonamides.

Поступила: 28.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Изучено влияние сульфатуанидина, фуразидина, нифурантела и сульфасалазина на лейкоцитарную формулу крови цыплят. Для исследования было сформировано пять групп, состоящие из суточных цыплят кросса «Хайссекс Браун». Контрольная группа получала в течение 10 суток обычную питьевую воду, в то время как цыплята II, III IV и V групп получали воду с сульфатуанидином, фуразидином, нифурантелом и сульфасалазином в дозировке 200 мг/л соответственно. Отбор крови методом внутрисердечной пункции проводили на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после отмены препарата. Эозинофилы, базофилы, псевдоэозинофилы, лимфоциты и моноциты подсчитывали в окрашенных по Романовскому-Гимзе мазках крови. Лейкоцитарную формулу находили относительно общего числа лейкоцитов по процентному содержанию отдельных форм клеток. Изучали динамику лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), индекса сдвига лейкоцитов (ИСЛК), лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ), индекса Кребса (ИК), лейкоцитарного индекса (ЛИ) и индекса иммунореактивности (ИИР) расчетным методом. Статистическую значимость различий оценивали, используя непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Выпаивание цыплят нитрофуранами (фуразидином и нифурантелом) и сульфаниламидами (сульфатуанидином и сульфасалазином) приводит к изменению значений лейкограммы по сравнению с аналогичными показателями в крови цыплят группы интактного контроля. Лейкоцитарные индексы крови цыплят, получавших анти-

микробные препараты из групп нитрофуранов и сульфаниламидов, остаются без статистически значимых изменений. Фуразидин вызывает выраженный рост количества псевдоэозинофилов в течение первых семи суток после отмены препарата, затем этот показатель возвращается к контрольным значениям. Нифурантел практически не оказывает влияния на физиологический статус крови цыплят, вызывая статистически незначимые отклонения значений количества эозинофилов и лимфоцитов. Сульфагуанидин и сульфасалазин не вызывают существенных изменений лейкоцитарной формулы крови цыплят.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Антимикробные препараты широко применяются в птицеводстве для терапии и профилактики бактериальных инфекций [1]. Это связано с тем, что в подстилке, пыли и воздухе находится большое количество потенциально опасных микроорганизмов, представителей родов *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus* [1-2]. Кроме того, использование антимикробных препаратов оказывает влияние не только на терапевтическом, но и на субтерапевтическом уровне в качестве стимуляторов роста животных. При таком способе применения дозы антимикробных препаратов значительно снижены, нежели при антибиотикотерапии, а длительность выпаивания может быть увеличена [3].

Нарушение стандартных схем применения антимикробных препаратов в птицеводстве влечёт за собой негативные последствия, прежде всего – формирование явления антибиотикорезистентности, или невосприимчивости микроорганизмов к лекарственным препаратам из группы антимикробных [4]. Известно, что бактерии способны вырабатывать механизмы самозащиты, в результате которых формируется устойчивость к веществам, к которым ранее были чувствительны [5].

Фуразидин и нифурантел относятся к антибиотикам группы нитрофуранов. Механизм их действия связан с угнетением важнейших биохимических процессов в микробной клетке (подавление активности дыхательной цепи, цикла трикарбоновых кислот), что приводит к разрушению клеточной мембраны [6].

Сульфагуанидин является производным сульфаниламида, снижение интенсивности роста бактерий достигается кон-

курентным антагонизмом с парааминобензойной кислотой (ПАБК) и конкурентным угнетением дигидроптеротсинтетазы, что приводит к нарушению синтеза тетрагидрофолиевой кислоты, необходимой для синтеза пуринов и пиримидинов [7]. Сульфасалазин представляет собой соединение, состоящее из салициловой кислоты и сульфапиридина, относящегося к сульфаниламидным препаратам. Таким образом, противомикробное действие в комбинированном препарате сульфасалазин оказывает сульфапиридин, действуя также на ПАБК [8].

Кровь является посредником во многих процессах метаболизма и способна отражать физиологическое состояние организма. Следовательно, изучение свойств крови важно для своевременной диагностики патологических состояний. Гематологические исследования крови птицы включают в себя оценку соотношения численности лимфоцитов, моноцитов, псевдоэозинофилов, эозинофилов и базофилов как одного из показателей физиологического статуса [9]. Это связано с тем, что у искомых клеток свои специфические функции, которые могут отражать влияние антимикробного препарата. Например, клетки крови способны продуцировать белки (α -интерферон, продуцируемый В-лимфоцитами, β -интерферон, а также γ -интерферон, выделяющийся Т-лимфоцитами), играющие важную роль в иммунном ответе организма на чужеродные вещества [10].

Цель данной работы – осуществить сравнительный анализ влияния антимикробных препаратов из группы сульфаниламидов и нитрофуранов на лейкограмму крови цыплят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены на базе Белгородского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и лаборатории физиологии клетки Белгородского государственного национального исследовательского университета на петушках породы «Хайсекс Браун». В ходе эксперимента было сформировано пять групп суточных цыплят: контрольная (I) и четыре опытные (II, III, IV, V). Контрольная группа получала в течение 10 суток обычную питьевую воду, в то время как цыплята II, III IV и V групп получали воду с сульфатуранидином, фуразидином, нифурантелом и сульфасалазином в дозировке 200 мг/л соответственно.

Забор крови осуществлен на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после отмены препаратов методом внутрисердечной пункции. В качестве антикоагулянта использовали раствор гепарина натрия в дозе 5000 МЕ/мл. Влияние антимикробных препаратов на лейкоцитарную формулу крови оценивали по соотношению численности клеток базофилов, эози-

нофилов, псевдоэозинофилов, лимфоцитов и моноцитов в мазке крови. Мазок изготавливали стандартным методом окрашивания по Романовскому-Гимзе. Для более точной оценки влияния препаратов на кровь были рассчитаны лейкоцитарные индексы [11].

Статистическую обработку цифрового материала проводили путём расчёта среднего значения (M) и стандартной ошибки среднего (m). Статистическую значимость различий оценивали, используя непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Сравнительный анализ полученных результатов в I и II группах показал отсутствие статистически значимых различий на первые, вторые и третьи сутки после отмены препарата. Однако на седьмые и девятые сутки количество эозинофилов в группе II снизилось на 36% и 30% соответственно по сравнению со значениями группы I. В этот же период выявлен рост численности псевдоэозинофилов на 13% и 11% соответственно.

Таблица 1 – Относительные значения лейкоцитарной формулы крови цыплят при применении сульфатуранидина и фуразидина, %

С у т к и	Гр уп па	Базофи- лы	Эозинофилы	Псевдоэозинофилы	Лимфоциты	Моноциты
1	I	2,00±0,36	5,00±0,77	54,00±1,23	36,30±2,08	2,00±0,00
	II	1,00±0,00	5,80±0,60	60,30±3,60	31,30±3,70	1,50±0,34
	III	1,00±0,00	4,17±0,30	63,80±2,62*	40,00±2,63	1,00±0,00
3	I	1,83±0,30	6,00±0,26	55,20±1,47	34,20±1,47	1,67±0,21
	II	1,00±0,00	5,70±0,70	58,30±1,74	33,83±1,92	1,17±0,17
	III	1,00±0,00	4,33±0,61	65,00±1,03***	28,50±0,76*	1,17±1,17
5	I	1,83±0,30	6,00±0,26	55,20±1,47	34,20±1,47	1,70±0,21
	II	1,00±0,00	5,70±0,67*	58,33±1,74	33,83±1,92	1,17±1,17
	III	1,00±0,00	4,70±0,20*	61,10±1,83**	31,67±1,92	1,00±0,00
7	I	2,67±0,21	7,00±0,25	58,17±0,70	30,50±0,92	1,17±0,21
	II	1,00±0,00	4,47±0,56*	66,00±2,25*	27,33±1,87	1,00±0,00
	III	1,00±0,00	5,70±0,49	63,17±1,96*	29,17±1,92	1,00±0,00
9	I	2,67±0,33	6,50±0,34	59,33±0,33	29,67±0,67	1,83±0,17
	II	1,00±0,00	4,50±0,22**	66,00±1,03**	27,50±1,02	1,00±0,00
	III	1,00±0,00	5,50±0,43	62,00±1,18	30,50±1,48	1,00±0,00

Примечание: «I» – контрольная группа; «II» – группа, получавшая сульфазуанидин; «III» – группа, получавшая фуразидин; * – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$; ** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,01$; *** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,001$.

Таблица 2 – Относительные значения лейкоцитарной формулы крови цыплят при применении нифурантела и сульфасалазина, %

С У Т К И	Гр уп па	Базофи- лы	Эозинофилы	Псевдоэозинофилы	Лимфоциты	Моноци- ты
1	I	2,70±0,20	7,00±0,40	58,00±0,80	30,20±1,30	2,00±0,00
	IV	1,00±0,00	6,00±0,26	61,80±1,85	30,20±1,74	1,00±0,00
	V	2,00±0,26	4,33±0,21**	65,67±1,36**	26,83±1,22	1,17±0,17
3	I	2,83±0,17	7,17±0,17	59,00±0,36	29,00±0,36	2,00±0,00
	IV	2,50±0,43	6,17±0,48	61,33±1,23	28,83±0,83	1,17±0,17
	V	2,00±0,26	4,67±0,49**	61,33±0,88	30,83±0,87	1,17±0,17
5	I	2,67±0,21	7,33±0,21	59,67±1,60	30,00±0,68	2,00±0,00
	IV	2,17±0,17	4,17±0,40**	59,00±2,17	33,67±2,46	1,00±0,00
	V	2,17±0,17	3,83±0,30**	61,00±2,67	31,83±2,52	1,17±0,17
7	I	2,50±0,34	6,67±0,70	59,33±0,33	29,67±1,17	1,83±0,17
	IV	2,83±0,17	3,67±0,21*	54,67±2,12	37,83±2,07**	1,00±0,00
	V	2,33±0,21	3,67±0,21*	60,00±2,39	32,87±2,21	1,17±0,17
9	I	2,83±0,30	6,50±0,80	60,33±0,42	28,67±0,76	1,17±0,21
	IV	2,17±0,17	4,50±0,22	59,00±1,91	33,33±1,92	1,00±0,00
	V	2,00±0,26	4,17±0,17*	62,83±1,58	29,83±1,97	1,17±0,17

Примечание: «I» – контрольная группа; «IV» – группа, получавшая нифурантел; «V» – группа, получавшая сульфасалазин; * – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$; ** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,01$.

Таблица 3 – Значения лейкоцитарных индексов крови цыплят, у.е.

С у т к и	Гр уп па	ЛИИ	ИСЛК	ИЛГ	ИК	ЛИ	ИИР
1	I	1,21±0,06	1,65±0,15	0,60±0,05	1,54±0,13	0,67±0,05	20,70±0,73
	II	1,65±0,29	2,32±0,49	0,49±0,08	2,20±0,47	0,55±0,09	28,70±4,34
	III	1,20±0,13	1,49±0,16	0,69±0,08	1,40±0,16	0,76±0,09	44,20±2,62
	I	1,40±0,04	2,10±0,10	0,45±0,03	1,95±0,10	0,50±0,03	18,60±0,44
	IV	18,6±0,44	2,26±0,20	0,44±0,03	2,10±0,20	0,49±0,04	36,20±1,85
	V	1,93±0,11	2,61±0,16	0,37±0,02	2,48±0,15	0,41±0,03	28,17±2,18
2	I	1,30±0,07	1,81±0,11	0,54±0,03	1,67±0,11	0,61±0,04	27,08±4,82
	II	1,42±0,11	1,90±0,18	0,53±0,04	1,77±0,17	0,59±0,05	36,08±3,54
	III	1,87±0,09	2,38±0,08	0,40±0,01	2,29±0,09	0,44±0,02	23,00±2,77
	I	1,44±0,02	2,23±0,03	0,42±0,01	2,04±0,03	0,49±0,01	18,08±0,15
	IV	1,60±0,09	2,34±0,08	0,41±0,01	2,14±0,12	0,47±0,02	32,58±3,63
	V	1,59±0,06	2,14±0,88	0,45±0,02	2,00±0,08	0,50±0,02	32,60±3,20
5	I	1,30±0,07	1,81±0,11	0,54±0,03	1,67±0,11	0,61±0,04	27,08±4,82
	II	1,42±0,11	1,90±0,18	0,53±0,04	1,77±0,17	0,59±0,04	36,00±3,54
	III	1,64±0,14	2,12±0,20	0,48±0,04	2,00±0,20	0,52±0,04	36,33±1,90
	I	1,42±0,04	2,19±0,08	0,43±0,12	1,99±0,08	0,50±0,02	18,67±0,30
	IV	1,47±0,13	1,96±0,21	0,53±0,06	1,82±0,20	0,58±0,06	37,83±2,20
	V	1,62±0,16	2,10±0,20	0,49±0,06	1,99±0,21	0,54±0,07	33,25±4,47
7	I	1,37±0,05	2,09±0,08	0,46±0,02	1,89±0,09	0,53±0,02	25,33±4,49
	II	2,00±0,20	2,60±0,24	0,39±0,04	2,50±0,26	0,42±0,04	32,00±2,25
	III	1,75±1,13	2,37±0,19	0,42±0,04	2,22±0,18	0,47±0,05	34,00±0,83
	I	1,46±0,02	2,20±0,11	0,43±0,02	2,00±0,08	0,50±0,02	21,25±3,16
	IV	1,23±0,10	1,61±0,14	0,63±0,05	1,48±0,14	0,70±0,07	41,50±2,14
	V	1,54±0,15	2,00±0,19	0,50±0,05	1,89±0,19	0,56±0,60	32,92±3,00
9	I	1,46±0,02	2,18±0,07	0,43±0,01	2,00±0,05	0,50±0,01	21,08±2,99
	II	1,95±0,09	2,53±0,12	0,39±0,02	2,42±0,12	0,42±0,02	32,00±1,03
	III	1,64±0,09	2,21±0,15	0,45±0,03	2,07±0,14	0,50±0,03	36,00±1,18
	I	1,52±0,03	2,30±0,07	0,41±0,01	2,11±0,05	0,47±0,01	23,50±3,80
	IV	1,46±0,11	1,96±0,17	0,51±0,04	1,81±0,16	0,57±0,05	37,83±1,80
	V	1,71±0,10	2,28±0,18	0,43±0,04	2,16±0,18	0,48±0,04	31,58±3,77

Примечание: «I» – контрольная группа; «II» – группа, получавшая сульфазуанидин; «III» – группа, получавшая фуразидин; «IV» – группа, получавшая нифурантел; «V» – группа, получавшая сульфасалазин.

В группе III выявлено повышение количества псевдоэозинофилов на первые (18%), третьи (18%), пятые (11%) и седьмые (8%) сутки после отмены препарата (табл. 1). На девятые сутки показатели вернулись к контрольным значениям. В то

же время, в группе III было выявлено снижение количества лимфоцитов относительно контроля на 16 %. В последующие дни количество лимфоцитов соответствовало контрольным показателям.

Изменения количества эозинофилов у цыплят группы IV относительно контроля были выявлены на пятые (43%) и седьмые (45%) сутки после отмены препарата (табл. 2). Кроме того, на седьмые сутки отмечено увеличение количества лимфоцитов на 28% в сравнении с группой I. На девятые сутки все показатели вернулись к контрольным значениям.

В крови цыплят, принимавших сульфасалазин, число эозинофилов статистически значимо снижалось на первые и третьи (38%), а также пятые (47%), седьмые (45%) и девятые (36%) сутки. Количество псевдоэозинофилов у цыплят V группы было повышено на 13% только в первые сутки после отмены препарата (табл. 2).

Результаты расчета лейкоцитарных индексов: лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), индекса сдвига лейкоцитов (ИСЛК), лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ), индекса Кребса (ИК), лейкоцитарного индекса (ЛИ) и индекса иммунореактивности (ИИР) представлены в таблице 3.

Установлено, что лейкоцитарные индексы цыплят, получавших антимикробные препараты из групп нитрофуранов и сульфаниламидов, не претерпевают статистически значимых изменений, по сравнению с показателями группы цыплят интактного контроля.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Выпаивание цыплят фуразидином, нифурантелом, сульфaguанидином и сульфасалазином привело к изменению показателей лейкограммы в сравнении с контролем. При этом значения лейкоцитарных индексов остались без статистически значимых изменений.

Фуразидин вызывает рост количества псевдоэозинофилов в течение семи суток после отмены препарата, затем указанный показатель возвращается к контрольным значениям. Таким образом, прекращение стресс-реакции организма птицы происходит на девятые сутки после отмены препарата. Нифурантел, напротив, практически не влияет на физиологический статус крови птицы, вызывая небольшие, статистически незначимые, отклонения

значений количества эозинофилов и лимфоцитов. Сульфaguанидин и сульфасалазин не вызывают существенных изменений лейкоцитарной формулы крови цыплят.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFECT OF ANTIMICROBIAL DRUGS FROM THE SULFONAMIDE AND NITROFURAN GROUPS ON THE BLOOD LEUKOGRAM OF CHICKENS

Prisnyi A.A.^{1*} – Dr. Biol. Sci., Principal Researcher FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0001-9380-4136); **Potapova M.S.**² – postgraduate student, "Belgorod State National Research University" (ORCID 0009-0000-4642-0412); **Stepanova T.V.**¹ – Senior Researcher FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0001-9092-8045); **Kravtsova A.R.**¹ – Junior Researcher FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0003-1340-8024)

¹FGBNU "Federal Scientific Centre — All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of Russian Academy of Sciences"

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod State National Research University»

*andreyprisnyi@gmail.com

ABSTRACT

The effect of sulfaguandine, furazidine, nifuratel and sulfasalazine on the leukogram of chicken blood was studied. Five groups were formed for the study, consisting of day-old Hyssex Brown chickens. The control group received regular drinking water for 10 days, while chickens of groups II, III, IV and V received water with sulfaguandine, furazidine, nifuratel and sulfasalazine at a dosage of 200 mg/l, respectively. Blood sampling by intracardiac puncture was performed on the first, third, fifth, seventh and ninth days after drug withdrawal. Eosinophils, basophils, pseudoeosinophils, lymphocytes, and monocytes were counted in Romanovsky-Giemsa stained blood smears. The leukocyte formula was found relative to the

total number of leukocytes by the percentage of individual cell forms. The dynamics of the leukocyte intoxication index, the leukocyte displacement index, the lymphocyte-granulocyte index, the Krebs index, the leukocyte index and the immunoreactivity index were studied by calculation. The statistical significance of the differences was assessed using the nonparametric Mann-Whitney U-test. Feeding chickens with nitrofurans (furazidine and nifuratel) and sulfinilamides (sulfaguanidine and sulfasalazine) leads to a change in leukogram values compared with similar indicators in the blood of chickens of the intact control group. The leukocyte indices of the blood of chickens treated with antimicrobial drugs from the groups of nitrofurans and sulfonamides remain without statistically significant changes. Furazidine causes a marked increase in the number of pseudoeosinophils during the first seven days after discontinuation of the drug, then this indicator returns to the control values. Nifuratel has virtually no effect on the physiological status of chicken blood, causing statistically insignificant deviations in the number of eosinophils and lymphocytes. Sulfaguanidine and sulfasalazine do not cause significant changes in the leukocyte formula of chicken blood.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Soliman, E.S. Epidemiological surveillance on environmental contaminants in poultry farms / E.S. Soliman // *International Journal of Poultry Science*. – 2009. – Vol. 8 (2). – P. 151.
2. Skóra, J. Evaluation of Microbiological and Chemical Contaminants in Poultry Farms / J. Skóra, K. Matusiak, P. Wojewódzki, A. Nowak, M. Sulyok, A. Li-gocka, B. Gutarowska // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2016. – Vol. 13. – P. 192.
3. Džidić, S. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects / S. Džidić, J. Šušković, B. Kos // *Food Technology & Biotechnology*. – 2008. – Vol. 46 (1). – P. 11-21.
4. Peterson, E. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between re-

sistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens / E. Peterson, P. Kaur // *Frontiers in microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1-21.

5. Van den Bogaard, A.E. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers / A.E. Van den Bogaard // *Journal of antimicrobial chemotherapy*. – 2001. – Vol. 47 (6). – P. 763-771.

6. Huttner, A. Nitrofurans: Nitrofurazone, furazidine and nitrofurantoin / A. Huttner, A. Stewardson // *Kucers' The Use of Antibiotics*. – CRC Press, 2017. – P. 1784-1798.

7. Scott, J.C. Prophylactic use of sulfaguanidine / J.C. Scott // *Journal of the American Medical Association*. – 1943. – Vol. 122 (9). – P. 588-591.

8. Gaginella, T.S. Sulfasalazine: multiplicity of action / T.S. Gaginella, R.E. Walsh // *Digestive diseases and sciences*. – 1992. – Vol. 37. – P. 801-812.

9. Присный, А.А. Сравнительный анализ влияния фторхинолонов на лейкограмму крови цыплят / А.А. Присный, А.А. Моисеева, В.Н. Скворцов // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. – 2020. – Т. 12 (2). – С. 11-24.

10. Михайлов, Е.В. Биохимический и иммунологический профиль крови кур-несушек после применения пробиотиков и интерферона / Е.В. Михайлов, В.И. Котарев, Л.Ю. Сашнина // *Ветеринарный фармакологический вестник*. – 2019. – № 3(8). – С. 95-104.

11. Бусловская, Л.К. Лейкоцитарные индексы и биохимические параметры крови кур при вибрационном воздействии разной частоты / Л.К. Бусловская, А.Ю. Ковтуненко // *Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского*. – 2009. – № 7. – С. 8-14.

REFERENCES

1. Soliman, E.S. Epidemiological surveillance on environmental contaminants in poultry farms / E.S. Soliman // *International Journal of Poultry Science*. – 2009. – Vol. 8 (2). – P. 151.
2. Skóra, J. Evaluation of Microbiological and Chemical Contaminants in Poultry

- Farms / J. Skóra, K. Matusiak, P. Wojewódzki, A. Nowak, M. Sulyok, A. Ligocka, B. Gutarowska // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2016. – Vol. 13. – P. 192.
3. Džidić, S. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects / S. Džidić, J. Šušković, B. Kos // *Food Technology & Biotechnology*. – 2008. – Vol. 46 (1). – P. 11-21.
4. Peterson, E. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens / E. Peterson, P. Kaur // *Frontiers in microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1-21.
5. Van den Bogaard, A.E. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers / A.E. Van den Bogaard // *Journal of antimicrobial chemotherapy*. – 2001. – Vol. 47 (6). – P. 763-771.
6. Huttner, A. Nitrofurans: Nitrofurazone, furazidine and nitrofurantoin / A. Huttner, A. Stewardson // *Kucers' The Use of Antibiotics*. – CRC Press, 2017. – P. 1784-1798.
7. Scott, J.C. Prophylactic use of sulfaguandine / J.C. Scott // *Journal of the American Medical Association*. – 1943. – Vol. 122 (9). – P. 588-591.
8. Gaginella, T.S. Sulfasalazine: multiplicity of action / T.S. Gaginella, R.E. Walsh // *Digestive diseases and sciences*. – 1992. – Vol. 37. – P. 801-812.
9. Prisnyi, A.A. Comparative analysis of the effect of fluoroquinolones on chicken blood leukogram / A.A. Prisnyi, A.A. Moiseeva, V.N. Skvortsov // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. – 2020. – Vol. 12 (2). – P. 11-24. (In Russ.)
10. Mikhailov, E.V. Biochemical and immunological profile of blood of laying hens after the use of probiotics and interferon / E.V. Mikhailov, V.I. Kotarev, L.Y. Sashkina // *Veterinary Pharmacological Bulletin*. – 2019. – № 3(8). – P. 95-104. (In Russ.)
11. Buslovskaya, L.K. Leukocyte indices and biochemical parameters of chicken blood under vibration effects of different frequencies / L.K. Buslovskaya, A.Y. Kovtunencko // *Issues of modern science and practice*. V.I. Vernadsky University. – 2009. – № 7. – P. 8-14. (In Russ.)

УДК: 636.4.082:612.33+616-053.31+615.357

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.120

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ПРОСТИМУЛ» НА МИТОТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ТОЩЕЙ КИШКИ У ПОРОСЯТ С ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОТРОФИЕЙ

Шутиков В.А.* – асп., мл. науч. сотр. лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики (ORCID ID 0009-0004-2018-2662)

ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»

*voronezh81@rambler.ru

Ключевые слова: поросята, перинатальная гипотрофия, тощая кишка, иммуногистохимия, Ki-67, рекомбинантные интерфероны, «Простимул».

Keywords: piglets, perinatal malnutrition, jejunum, immunohistochemistry, Ki-67, recombinant interferons, Prostimul.

Поступила: 15.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

В статье описаны результаты проведенного исследования, целью которого являлось изучение митотической активности клеток тощей кишки у здоровых поросят, поросят с перинатальной гипотрофией, а также оценка влияния препарата «Простимул» на регенераторные процессы в кишечнике при данной патологии. Для исследования были подобраны новорожденные поросята и сформированы следующие группы: здоровые поросята (первая группа) и поросята с перинатальной гипотрофией, которые в дальнейшем были разделены на две группы: вторая группа — поросята с перинатальной гипотрофией (n=20), которым кроме основного рациона молозива выпаивали коровье молозиво в дозировке 2,5 мл на голову в течение 3 дней (схема, применяемая в хозяйстве) и третья группа — поросята с перинатальной гипотрофией (n=20), которым внутримышечно вводили препарат «Простимул» двукратно, на первый и третий дни жизни в дозе 0,1 мл/кг массы тела. В ткани тощей кишки у поросят до приема молозива, а также на 7, 14, 21 дни проведено иммуногистохимическое исследование маркером Ki-67. Установлено, что перинатальная гипотрофия характеризуется снижением интенсивности процессов клеточной пролиферации. Динамика изменений показателей экспрессии Ki-67 свидетельствует о постепенном увеличении пролиферативной активности клеток в тощей кишке с возрастом во всех экспериментальных группах, что соответствует нормальному постнатальному развитию органа, однако темп этих изменений был наиболее выражен в группе поросят-гипотрофиков, получавших препарат «Простимул», что позволило сократить отставание от здоровых животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Перинатальная гипотрофия у поросят остаётся одной из ключевых проблем промышленного свиноводства, которая значительно снижает экономическую эффективность отрасли [1,2]. По данным современных исследований, около 15-20% поросят рождаются с признаками гипотрофии, что проявляется не только в сниженной массе тела, но и в структурно-функциональных нарушениях внутренних органов [3,4].

Особое значение в патогенезе перинатальной гипотрофии имеют изменения в пищеварительной системе, прежде всего в тонком отделе кишечника, ответственном за основные процессы переваривания и всасывания питательных веществ [5]. Известно, что функциональная активность кишечника напрямую зависит от пролиферативных процессов в его эпителиальном слое, обеспечивающих постоянное обновление энтероцитов и поддержание целостности кишечного барьера [6].

Митотическая активность клеток эпителия тонкого кишечника является важнейшим показателем, отражающим регенераторный потенциал органа и его функциональное состояние. У поросят с перинатальной гипотрофией наблюдаются выраженные нарушения этих процессов, что усугубляет течение основного заболевания и препятствует полноценному росту и развитию животных [7,8].

В настоящее время ведется активный поиск эффективных и безопасных фармакологических средств, способных нормализовать процессы пролиферации и дифференцировки клеток кишечного эпителия у поросят с перинатальной гипотрофией. Одним из перспективных препаратов в этом направлении является «Простимул» – комплексный препарат, содержащий рекомбинантные цитокины первого типа, а так же витамины А, Е, С, регулирующие метаболические процессы в организме [9].

Несмотря на определенные успехи в коррекции перинатальной гипотрофии у поросят, механизмы влияния различных фармакологических препаратов на мито-

тическую активность клеток кишечника остаются недостаточно изученными, что обуславливает актуальность настоящего исследования. Детальное понимание происходящих процессов позволит разработать научно обоснованные подходы к терапии и профилактике данного заболевания, повысив тем самым жизнеспособность поросят и экономическую эффективность отрасли.

Целью настоящего исследования явилось изучение митотической активности клеток тонкого отдела кишечника у здоровых поросят, поросят с перинатальной гипотрофией, а также оценка влияния препарата «Простимул» на регенераторные процессы в кишечнике при данной патологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В 2025 году в нескольких крупных промышленных свиноводческих хозяйствах Воронежской области был проведен эксперимент на поросятах раненого перинатального периода, полученных от клинически здоровых свиноматок 3-4 опороса. Все свиноматки находились при одинаковых условиях содержания: оптимальные параметры микроклимата с учетом их физиологического состояния, кормление комбикормом СК-2, сбалансированным по питательным веществам и биологически активным веществам, свободный доступ к питьевой воде. На начальном этапе эксперимента полученные во время опороса поросята проходили клинический осмотр и взвешивание, целью которого являлось выявление поросят с перинатальной гипотрофией. Основным критерием для установления диагноза «перинатальная гипотрофия» являлась низкая масса тела при рождении. По результатам наших исследований поросята с перинатальной гипотрофией характеризуются дефицитом массы тела (разница среднего веса группы поросят-нормотрофиков и поросят-гипотрофиков в среднем разнится на 28,1 %). Подкожная жировая клетчатка слабо выражена или отсутствует. Кожа у поросят-гипотрофиков сухая, нередко морщини-

стая, тургор резко ослаблен. Акт дыхания учащен, дыхательные движения поверхностные, пульс слабо прощупывается, тоны сердца глухие, слизистые оболочки анемичны. Температура тела на нижней границе нормы или меньше, дистальные участки конечностей холодные. Нарушена координация движения, животные слабо стоят на конечностях. Аппетит снижен, поросята не активно подходят к свиноматке для потребления молозива.

После проведения клинического исследования новорожденные поросята были по принципу «пар-аналогов» разбиты на следующие группы: здоровые поросята ($n=20$) и поросята с перинатальной гипотрофией ($n=40$). До приема молозива произведен вынужденный убой поросят с каждой группы для отбора ткани тощей кишки. На следующем этапе здоровые поросята были учтены как первая группа, поросята с перинатальной гипотрофией были разделены на две группы. Вторая группа — поросята с перинатальной гипотрофией ($n=20$), которым *per os* дополнительно к основному рациону выпаивали коровье молозиво в дозировке 2,5 мл на голову в течение 3 дней (схема, применяемая в хозяйстве). Третья группа — поросята с перинатальной гипотрофией ($n=20$), которым внутримышечно вводили препарат «Простимул» двукратно, на первый и третий дни жизни в дозе 0,1 мл/кг массы тела. У поросят исследуемых групп на 7, 14 и 21 день проводился вынужденный убой животных с каждой группы для отбора проб патологического материала.

Убой животных проводили в соответствии с Directive 93/119/E C. Вскрытие трупов поросят проводили в прозектории ФГБНУ «ВНИИВФит».

Иммуногистохимическое исследование проводили в тонком отделе кишечника (тощая кишка), для чего фрагмент тощей кишки извлекали острым режущим инструментом и фиксировали в растворе нейтрального 10 % буферного формалина «ГИСТОПОИНТ» с последующим обезвоживанием с использованием абсолютного изопропилового спирта и заливкой в

парафин «ГИСТОМИКС».

Фиксированный в растворе нейтрального формалина и залитый в парафин кишечник использовали для изготовления гистологических препаратов. Проводили иммуногистохимическое исследование материала с антителами к Ki-67 (DAKO) и докрашивания ядер гематоксилином для более точной идентификации клеток для дальнейшей оценки состава и качества их тканевой популяции в тонком отделе кишечника у поросят исследуемых групп. Так же проведена оценка плотности позитивных клеток методом подсчета в 30 полях зрения микроскопа при увеличении 400X для большей достоверности результатов. Использовался микроскоп Биомед с камерой для микроскопа Levenhuk и программное обеспечение TourView.

При проведении статистической обработки полученных исходных данных использовали меры центральной тенденции (среднее значение), меры вариации (стандартное отклонение, доверительные интервалы). Далее проводили сравнительную оценку показателей между исследуемыми группами параметрическими тестами (t-тест — между 2-мя группами, ANOVA — между 3-мя группами) и непараметрическими тестами (U-тест Манна-Уитни — для 2-х групп и Краскела-Уоллиса — для 3-х групп). Для выявления взаимосвязей между показателями исследуемых групп применяли методы корреляционного анализа (коэффициент Пирсона, коэффициент Спирмена). Так же применялись методы регрессивного анализа для выявления линейной регрессии и логической регрессии.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью прикладных компьютерных программ «Statistica 6.0» (Stat Soft Inc., США) и Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты иммуногистохимического исследования тощей кишки у здоровых поросят и поросят с перинатальной гипотрофией до приема молозива представлены на рисунке 1.

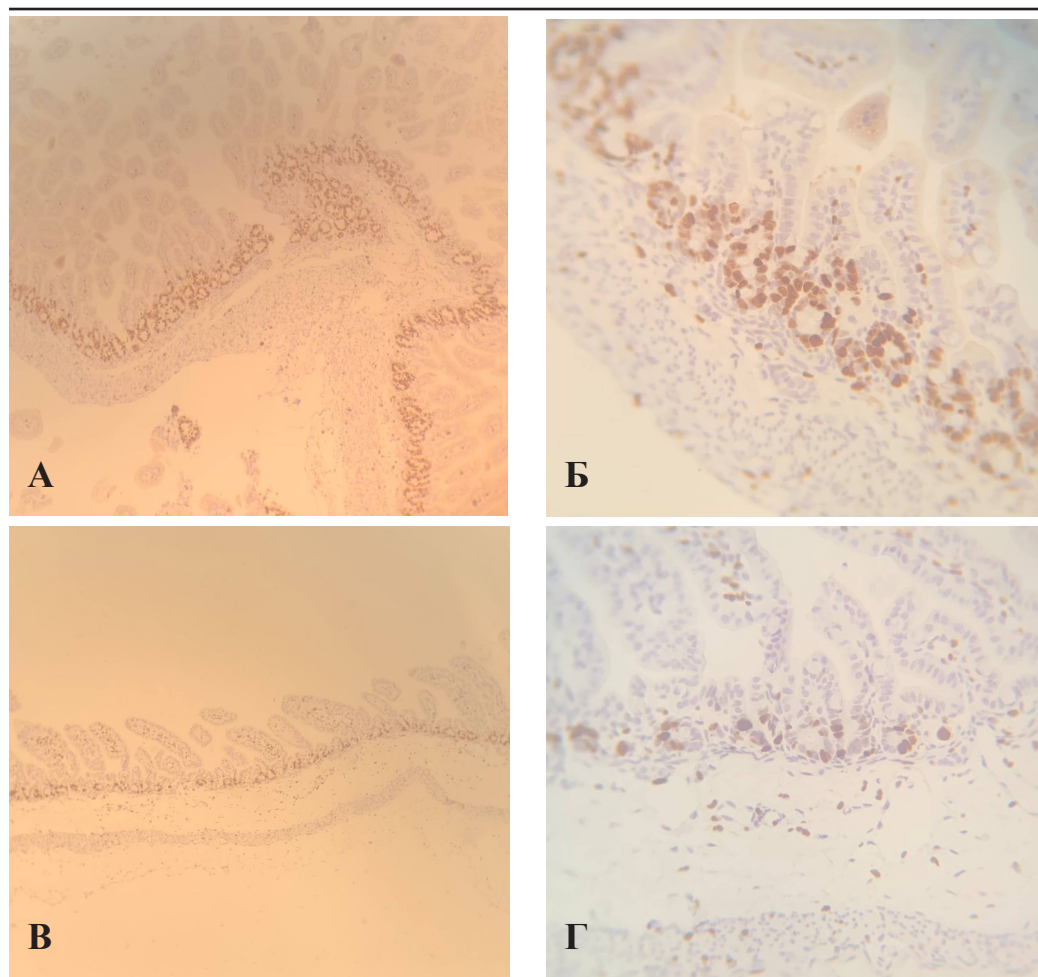


Рисунок 1 – Распределение Ki-67-положительных клеток в тощей кишке у поросят исследуемых групп до приема молозива. Окрашивание первичным антителом к Ki-67 (DAKO), докрасивание ядер гематоксилином А – здоровые поросята, ув. X100; Б – здоровые поросята, ув. X400; В – поросята с перинатальной гипотрофией, ув. X100; Г – поросята с перинатальной гипотрофией, ув. X400.

Таблица 1 – Плотность Ki-67-позитивных клеток в ткани тощей кишки у поросят исследуемых групп до приема молозива (клеток/мм²)

Исследуемая группа	Среднее значение	Стандартное отклонение (SD)	95 % доверительный интервал (ДИ)	Медиана	Min - Max
Здоровые поросят	126,4	15,8	120,5-132,3	125,5	98 - 154
Поросята с перинатальной гипотрофией	64,9	11,2	60,7-69,1	63,5	45 - 85

При иммуногистохимическом исследовании у поросят с перинатальной гипотрофией при определении экспрессии маркера Ki-67 были выявлены позитивные клетки в криптах ворсин, а также в стромах кишечника. У здоровых поросят наблюдалась аналогичная картина. Ki-67 позитивные клетки находились преимущественно в крипах, единичные визуализировались в стромах и в формирующихся бляшках. Стоит отметить, что у поросят с перинатальной гипотрофией визуально уровень клеточной экспрессии Ki-67 были ниже, что в данном случае указывает на сниженную пролиферативную активность и замедленное формирование органа.

При анализе плотности Ki-67-позитивных клеток в ткани тощей кишки у поросят до приема молозива (таблица 1) было отмечено, что в поле зрения микроскопа у здоровых поросят положительно экспрессирующих клеток было на 94,8 % больше, чем у поросят с перинатальной гипотрофией, что указывает на замедленный процесс формирования тощей кишки у гипотрофичных животных.

Результаты иммуногистохимического исследования тощей кишки у здоровых поросят и поросят с перинатальной гипотрофией на 7 день жизни представлены на рисунке 2. У поросят первой группы при иммуногистохимическом исследовании маркером Ki-67 отмечается интенсивная экспрессия в крипах и ворсинах слизистой оболочки тощей кишки. Так же единичные Ki-67-позитивные клетки отмечались в подслизистой и мышечной оболочке, базальной мембране и стромах ворсин. У поросят второй группы отмеча-

лись положительно экспрессирующие клетки в крипах и стромах ворсин. У поросят третьей группы отмечена интенсивная экспрессия в базальной мембране и стромах ворсин, а также в крипах, а именно в цилиндрических клетках, которые являются источником регенерации как для эпителиальных клеток ворсин, так и для клеток крипт. Так же у поросят третьей группы отмечались положительно экспрессирующие клетки в мышечной и серозной оболочке тощей кишки.

При анализе плотности Ki-67-позитивных клеток в ткани тощей кишки на 7 день жизни (таблица 2) было отмечено, что в поле зрения микроскопа самое большое количество Ki-67-позитивных клеток у поросят первой группы, чьи значения на 26,8 % выше, чем у поросят второй группы, и на 21,2 %, чем у поросят третьей группы.

Результаты иммуногистохимического исследования тощей кишки у здоровых поросят и поросят с перинатальной гипотрофией на 14 день жизни представлены на рисунке 3.

У поросят первой группы при иммуногистохимическом исследовании маркером Ki-67 отмечается интенсивная экспрессия в крипах и ворсинах слизистой оболочки тощей кишки. В ворсинах положительно экспрессирующие клетки располагались единично в базальной мембране и стромах. У поросят второй группы клеточная экспрессия визуально была менее интенсивна относительно первой группы, экспрессирующие клетки располагались преимущественно в крипах, единичные клетки отмечены в стромах ворсин и мышечной оболочке тощей кишки. У поросят треть-

Таблица 2 – Плотность Ki-67-позитивных клеток в ткани тощей кишки у поросят исследуемых групп на 7 день жизни (клеток/мм²)

Исследуемая группа	Среднее значение	Стандартное отклонение (SD)	95 % доверительный интервал (ДИ)	Медиана	Min - Max
Первая	150,1	18,3	143,2-157,0	151,5	115-181
Вторая	118,4	14,2	113,2-123,6	119,1	91-144
Третья	123,8	15,1	118,2-129,4	124,1	95-152

ей группы отмечена интенсивная клеточная экспрессия в криптах и строме ворсин. Единичные Ki-67-положительные клетки визуализировались в подслизистой и мышечной оболочке.

При анализе плотности Ki-67-положительных клеток в ткани тощей кишки на 14 день жизни (таблица 3) было отмечено, что в поле зрения микроскопа самое

большое количество Ki-67-положительных клеток у поросят первой и третьей группы. Разница между группами составляла 3,4 % в пользу первой группы. Во второй группе количество положительно экспрессирующих клеток на 48,9 % ниже, относительно первой группы, и на 44,0 % относительно третьей.

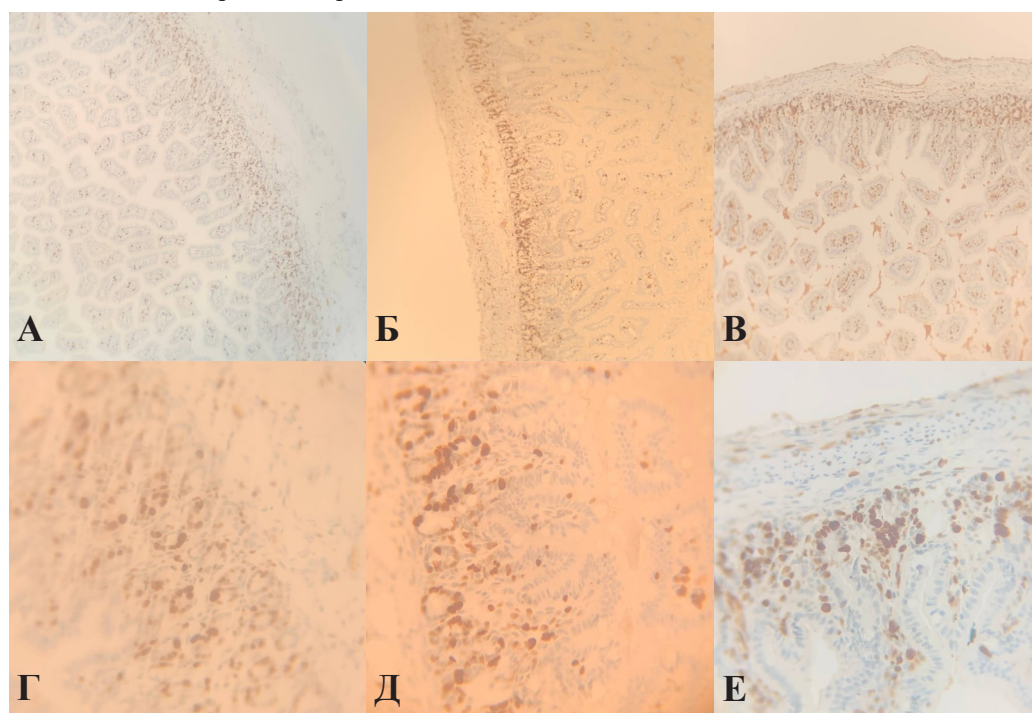


Рисунок 2 – Распределение Ki-67-положительных клеток в тощей кишке у поросят исследуемых групп на 7 день жизни. Окрашивание первичным антителом к Ki-67 (DAKO), докрасивание ядер гематоксилином А – первая группа, ув. X100; Б – вторая группа, ув. X100; В – третья группа, ув. 100X; Г – первая группа, ув. X400; Д – вторая группа, ув. 400X; Е – третья группа, ув. 400X.

Таблица 3 – Плотность Ki-67-положительных клеток в ткани тощей кишки у поросят исследуемых групп на 14 день жизни (клеток/мм²)

Исследуемая группа	Среднее значение	Стандартное отклонение (SD)	95 % доверительный интервал (ДИ)	Медиана	Min - Max
Первая	175,6	21,3	167,4-183,8	175,0	134-215
Вторая	117,9	14,5	112,6-123,2	118,5	90-144
Третья	169,8	20,1	162,0-177,7	169,5	130-208

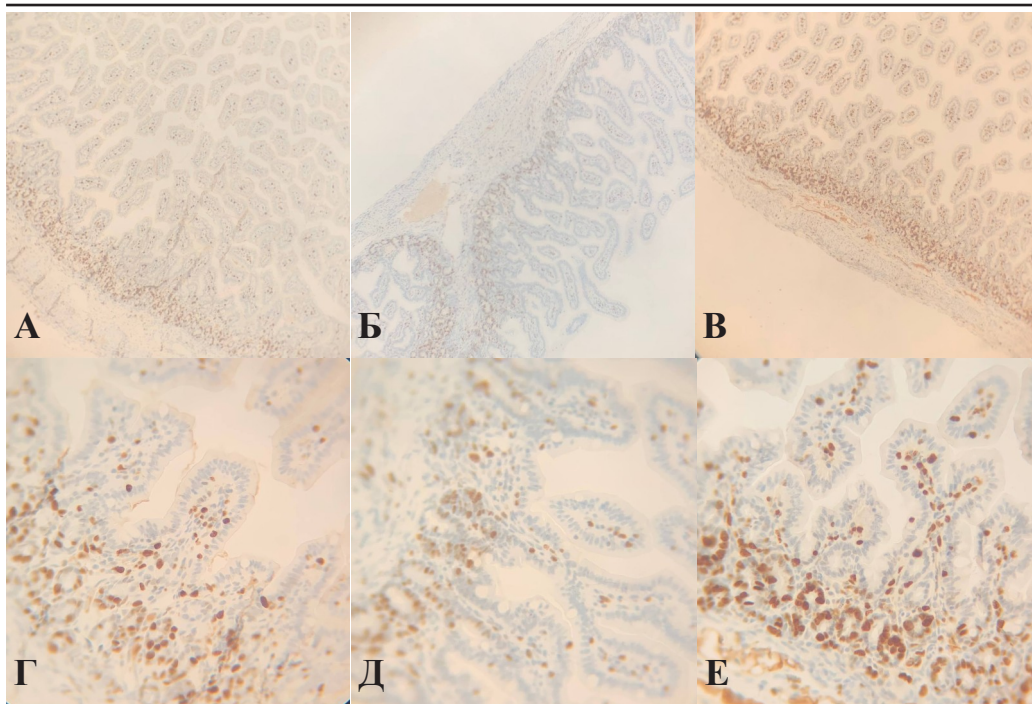


Рисунок 3 – Распределение Ki-67-положительных клеток в тощей кишке у поросят исследуемых групп на 14 день жизни. Окрашивание первичным антителом к Ki-67 (DAKO), докрасивание ядер гематоксилином А – первая группа, ув. X100; Б – вторая группа, ув. X100; В – третья группа, ув. 100X; Г – первая группа, ув. X400; Д – вторая группа, ув. 400X; Е – третья группа, ув. 400X.

Результаты иммуногистохимического исследования тощей кишки у здоровых поросят и поросят с перинатальной гипотрофией на 21 день жизни представлены на рисунке 4.

У поросят первой группы при визуальной оценке интенсивности экспрессии маркера клеточной пролиферации уровень был наибольшим, относительно других групп. Положительно экспрессирующие клетки в большом количестве находятся в криптах. В строме ворсин отмечаются единичные Ki-67-положительные клетки. У поросят второй группы экспрессирующие клетки так же расположены преимущественно слизистой оболочке тощей кишки, а именно в криптах и частично в строме ворсин. При этом визуальный уровень экспрессии ниже, относительно первой группы. У поросят третьей группы от-

мечена интенсивная клеточная экспрессия в криптах. Количество Ki-67-положительных клеток в строме ворсин было относительно не велико. Единичные Ki-67-положительные клетки визуализировались в подслизистой и мышечной оболочке.

При анализе плотности Ki-67-положительных клеток в ткани тощей кишки на 21 день жизни (таблица 4) было отмечено, что в поле зрения микроскопа самое большое количество Ki-67-положительных клеток у поросят первой и третьей группы. Разница в количестве экспрессирующих клеток составляла 6,7 % в пользу первой группы. Наименьшее количество Ki-67-положительных клеток отмечено во второй группе, их количество при подсчете было на 55,6 % ниже, чем в первой группе, и на 48,9 % ниже, чем в третьей группе.

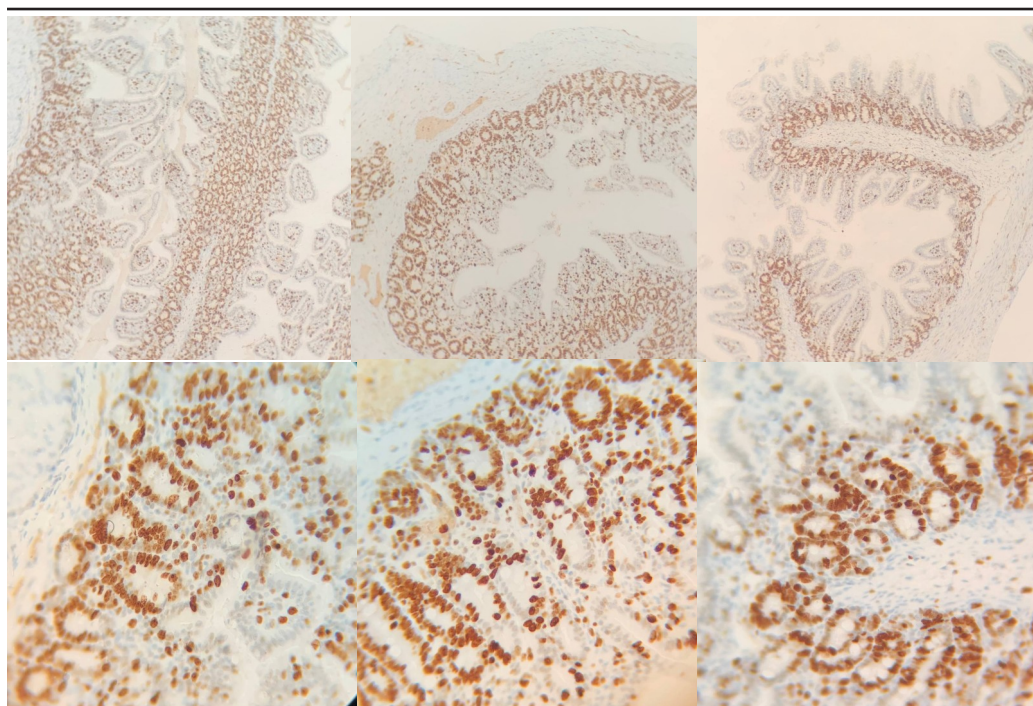


Рисунок 4 – Распределение Ki-67-положительных клеток в тощей кишке у поросят исследуемых групп на 21 день жизни. Окрашивание первичным антителом к Ki-67 (DAKO), докрасивание ядер гематоксилином А – первая группа, ув. X100; Б – вторая группа, ув. X100; В – третья группа, ув. 100X; Г – первая группа, ув. X400; Д – вторая группа, ув. 400X; Е – третья группа, ув. 400X.

Таблица 4 – Плотность Ki-67-позитивных клеток в ткани тощей кишки у поросят исследуемых групп на 21 день жизни (клеток/мм²)

Исследуемая группа	Среднее значение	Стандартное отклонение (SD)	95 % доверительный интервал (ДИ)	Медиана	Min - Max
Первая	208,3	23,6	199,2-217,4	209,0	159-254
Вторая	152,7	17,4	146,2-159,2	153,0	118-186
Третья	201,6	22,8	192,8-210,4	202,5	155-246

В таблице 5 представлены результаты попарного сравнения исследуемых групп поросят в разные дни исследования с использованием метода Тьюки. Данный метод позволяет провести множественное сравнение групп и определить, между какими группами существуют статистически значимые различия.

При анализе данных отмечено, что на

1 день между здоровыми поросятами и поросятами с перинатальной гипотрофией наблюдается большая статистически значимая разница в 94,8 % ($p < 0,0001$). Это указывает на то, что перинатальная гипотрофия уже с первого дня жизни оказывает существенное влияние на уровень митотической активности клеток тонкого отдела кишечника.

На 7 день жизни значения первой группы значимо отличаются от второй группы на 26,8 % ($p < 0,0001$) и от третьей группы на 21,2 % ($p < 0,0001$), при этом различия между второй и третьей группой были не достоверны.

На 14 день жизни значения поросят первой группы достоверно различаются со второй группой на 48,9 % ($p < 0,0001$), при этом достоверного различия с треть-

ей группой не отмечено. Вторая группа демонстрирует достоверное различие с третьей на 44,0 % ($p < 0,0001$).

На 21 день жизни значения поросят первой группы достоверно различаются со второй группой на 36,4 % ($p < 0,0001$), при этом достоверного различия с третьей группой не отмечено. Вторая группа демонстрирует достоверное различие с третьей на 32,0 % ($p < 0,0001$).

Таблица 5 – Попарное сравнение групп по методу Тьюки

Группы сравнения	Разница средних значений	Разница средних значений в %	p-значение
1 день			
Здоровые поросята - Поросята с перинатальной гипотрофией	61,5	94,8	$< 0,0001$
7 день			
Первая группа - Вторая группа	31,7	26,8	$< 0,0001$
Первая группа - Третья группа	26,3	21,2	$< 0,0001$
Вторая группа - Третья группа	5,4	4,6	0,5737
14 день			
Первая группа - Вторая группа	57,7	48,9	$< 0,0001$
Первая группа - Третья группа	5,8	3,4	0,4582
Вторая группа - Третья группа	51,9	44,0	$< 0,0001$
21 день			
Первая группа - Вторая группа	55,6	36,4	$< 0,0001$
Первая группа - Третья группа	6,7	3,3	0,2631
Вторая группа - Третья группа	48,9	32,0	$< 0,0001$

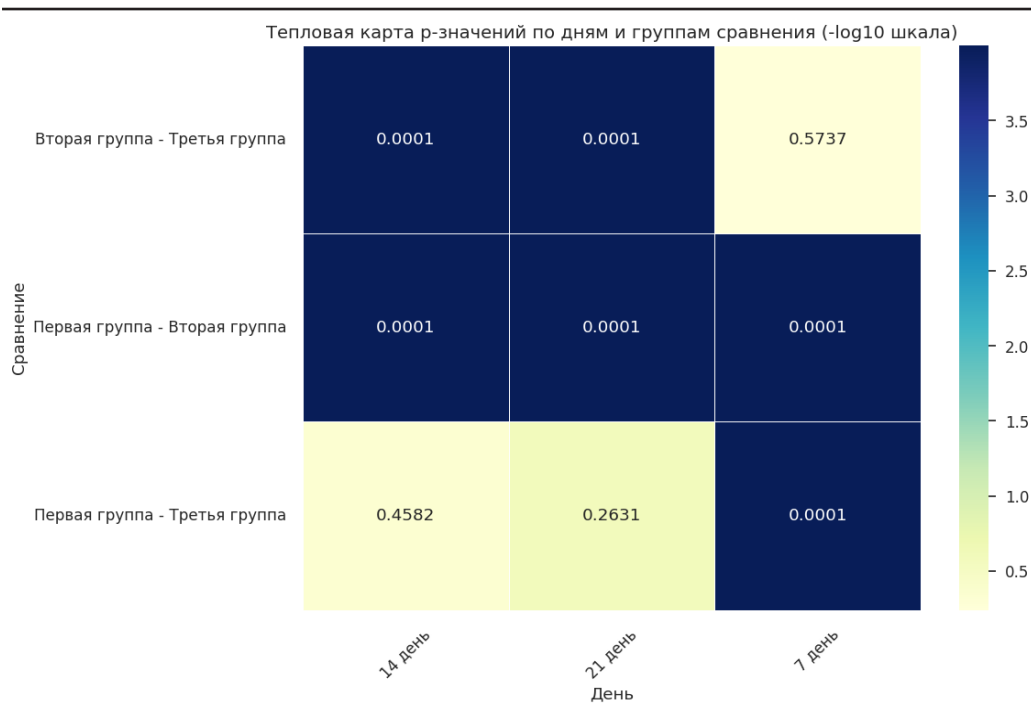


Рисунок 5 – Тепловая карта статистически значимых различий по дням исследования и группам сравнения.

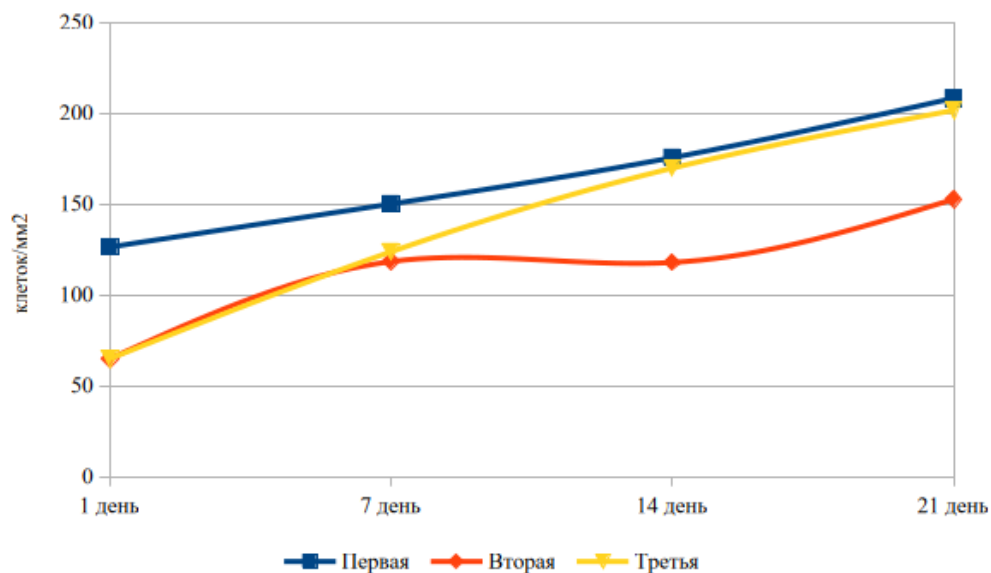


Рисунок 6 – Динамика плотности Ki-67-позитивных клеток в ткани тощей кишки у поросят исследуемых групп.

На рисунке 5 наглядно представлены статистически значимых различий по дням исследования и группам сравнения.

Таким образом, стоит отметить, что в динамике между первой и второй группой различия остаются достоверными на всех днях исследования, между первой и третьей группой различия исчезают к 14 дню, а между второй и третьей достоверные различия появляются к 14 дню и сохраняются до конца исследования.

На рисунке 6 наглядно отражена динамика плотности Ki-67-позитивных клеток в ткани тощей кишки у поросят исследуемых групп по дням исследования.

При анализе данных рисунка стоит отметить, что перинатальная гипотрофия сопровождается сильным снижением уровня клеточной экспрессии маркера митотической активности. Применение препарата «Простимул» поросятам с перинатальной гипотрофией стимулирует процессы клеточного деления, которые начинают интенсивно отмечаться с 7 дня и сохраняют растущую динамику до 21 дня. Применение дополнительной порции коровьего молозива поросятам с перинатальной гипотрофией не показало существенного влияния на интенсивность процессов клеточного деления в ткани тонкого отдела кишечника.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Полученные данные свидетельствуют о том, что внутриутробная гипотрофия приводит к значительному снижению пролиферативной активности клеток тощего кишечника, что может негативно сказываться на развитии пищеварительной системы новорожденных поросят. Применение исследуемого препарата «Простимул» показало высокую эффективность в коррекции выявленных нарушений. К 14 дню жизни в группе поросят с перинатальной гипотрофией, получавших препарат «Простимул», наблюдалось существенное увеличение всех параметров экспрессии Ki-67, а к 21 дню большинство показателей достигало уровня здоровых поросят. Это указывает на восстановление пролиферативной активности в тощей кишке.

Молозиво также оказывало положительное влияние на пролиферативную активность клеток кишечника, однако его эффект был менее выражен по сравнению с основным препаратом. Это может быть связано с различиями в составе и концентрации биологически активных веществ.

Динамика изменений показателей экспрессии Ki-67 свидетельствует о постепенном увеличении пролиферативной активности клеток в кишечнике с возрастом во всех экспериментальных группах, что соответствует нормальному постнатальному развитию органа, однако темп этих изменений был наиболее выражен в группе поросят-гипотрофиков, получавших препарат «Простимул», что позволило сократить отставание от здоровых животных.

Таким образом, исследуемый препарат «Простимул» может рассматриваться как перспективное средство для коррекции морфофункциональных нарушений в тонком отделе кишечника у новорожденных поросят с задержкой внутриутробного развития.

EFFECT OF THE DRUG «PROSTIMUL» ON MITOTIC ACTIVITY OF JEJUNUM CELLS IN PIGLETS WITH PERINATAL HYPOTROPHY

Shutikov V.A.* – postgraduate student, junior researcher of the laboratory of innovative preparations of recombinant proteomics (ORCID ID 0009-0004-2018-2662)

FGBNU "VNIVIPPhyT"

*voronezh81@rambler.ru

ABSTRACT

The article describes the results of a study aimed at studying the mitotic activity of jejunum cells in healthy piglets and piglets with perinatal hypotrophy, as well as evaluating the effect of the drug "Prostimul" on the regenerative processes in the intestine in this pathology. Newborn piglets were selected for the study and the following groups were formed: healthy piglets (the first group) and piglets with perinatal hypotrophy, which were further divided into two groups: The

second group - piglets with perinatal hypotrophy (n=20), which per os in addition to the main diet were given cow's milk in a dosage of 2.5 ml per head for 3 days (scheme used in the farm) and the third group - piglets with perinatal hypotrophy (n=20), which were intramuscularly injected with the drug "Prostimul" twice, on the first and third days of life at a dosage of 0.1 ml/kg body weight. Immunohistochemical study with Ki-67 marker was carried out in the jejunum tissue of piglets before milk intake, as well as on 7, 14, 21 days. It was found that perinatal hypotrophy is characterized by a decrease in the intensity of cell proliferation processes. The dynamics of changes in Ki-67 expression indices indicates a gradual increase in the proliferative activity of cells in the jejunum with age in all experimental groups, which corresponds to the normal postnatal development of the organ, but the rate of these changes was most pronounced in the group of hypotrophic piglets receiving the drug "Prostimul", which reduced the lag behind the healthy animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Филиппов Е.С., Перфильева Н. А. Заддержка внутриутробного развития плода: современные аспекты проблемы // БМЖ. 2007. №2.
2. Сиразиев, Р. З. Гипотрофия поросят в промышленном свиноводстве. Часть 2 / Р. З. Сиразиев // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2022. – № 4 (69). – С. 70-76. – DOI 10.34655/bgsha.2022.69.4.009. – EDN FVFREB.
3. Демидович, А. П. Гипотрофия у поросят: антенатальная и постнатальная диагностика, профилактика в условиях промышленных комплексов: специальность 06.02.01 "Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных": автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / А. П. Демидович. – Витебск, 2006. – 20 с. – EDN TSWNLL.
4. Влияние препарата «Простимул» на естественную резистентность и Уровень

экспрессии генов поросят с гипотрофией / Е. В. Михайлов, В. А. Шутиков, Б. В. Шабунин [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 3. – С. 135-146. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.3.135. – EDN PXJPJW.

5. Гаврилова В. А., Столяров В. А., Басова Т. М. Развитие стенки тонкого отдела кишечника и его составляющих двенадцатиперстной, тощей, подвздошной кишок и их оболочек у поросят от рождения до 60 суток // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. 2010. №. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/razvitie-stenki-tonkogo-otdela-kishechnika-i-ego-sostavlyayuschih-dvenadtsatiperstnoy-toschey-podvzdoshnoy-kishok-i-ih-obolochek-u> (дата обращения: 20.05.2025).
6. Barbara G., Barbaro M.R., Fuschi D., Palombo M., Falangone F., Cremon C., Marasco G. and Stanghellini V (2021) Inflammatory and Microbiota-Related Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier. *Front. Nutr.* 8:718356. doi: 10.3389/fnut.2021.718356
7. Hou Q., Huang J., Ayansola H., Masatoshi H. and Zhang B. (2021) Intestinal Stem Cells and Immune Cell Relationships: Potential Therapeutic Targets for Inflammatory Bowel Diseases. *Front. Immunol.* 11:623691. doi: 10.3389/fimmu.2020.623691
8. Mu Q., Kirby J., Reilly C.M. and Luo X.M. (2017) Leaky Gut as a Danger Signal for Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.* 8:598. doi: 10.3389/fimmu.2017.00598
9. Исследование иммунокомпетентных органов поросят-гипотрофиков на фоне применения видоспецифичного рекомбинантного интерферона / Е. В. Михайлов, Б. В. Шабунин, А. В. Некрасов [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2024. – № 6. – С. 24-28. – DOI 10.33861/2071-8020-2024-6-24-28. – EDN BFYJMS.

REFERENCES

1. Filippov E.S., Perfil'eva N.A. Intrauterine growth retardation of the fetus: modern aspects of the problem // BMZh. 2007. No. 2.
2. Siraziyev, R.Z. Hypotrophy of piglets in industrial pig farming. Part 2 / R.Z. Siraziyev // Bulletin of the Buryat State Agri-

- cultural Academy named after V.R. Filippov. - 2022. - No. 4 (69). - P. 70-76. - DOI 10.34655/bgsha.2022.69.4.009. - EDN FVFREB.
3. Demidovich, A. P. Hypotrophy in piglets: antenatal and postnatal diagnostics, prevention in industrial complexes: specialty 06.02.01 "Diagnostics of diseases and therapy of animals, pathology, oncology and morphology of animals": abstract of a dissertation for the degree of candidate of veterinary sciences / A. P. Demidovich. - Vitebsk, 2006. - 20 p. - EDN TSWNLL.
4. The effect of the drug "Prostimul" on the natural resistance and the level of gene expression of piglets with hypotrophy / E. V. Mikhailov, V. A. Shutikov, B. V. Shabunin [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2024. - No. 3. - P. 135-146. - DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.3.135. - EDN PXJPJW.
5. Gavrilova V. A., Stolyarov V. A., Basova T. M. Development of the wall of the small intestine and its components - the duodenum, jejunum, ileum and their membranes in piglets from birth to 60 days // Scientific notes of the KGAVM im. N.E. Bauman. 2010. No. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/razvitie-stenki-tonkogo-otdelakishhechnika-i-ego-sostavlyayuschih-dvenadtsatiperstnoy-toschey-podvzdoshnoy-kishok-i-ih-obolochek-u> (date of access: 05/20/2025).
6. Barbara G., Barbaro M.R., Fuschi D., Palombo M., Falangone F., Cremon C., Marasco G. and Stanghellini V. (2021) Inflammatory and Microbiota-Related Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier. *Front. Nutr.* 8:718356. doi: 10.3389/fnut.2021.718356
7. Hou Q., Huang J., Ayansola H., Matsatoshi H. and Zhang B. (2021) Intestinal Stem Cells and Immune Cell Relationships: Potential Therapeutic Targets for Inflammatory Bowel Diseases. *Front. Immunol.* 11:623691. doi: 10.3389/fimmu.2020.623691
8. Mu Q., Kirby J., Reilly C.M. and Luo X.M. (2017) Leaky Gut as a Danger Signal for Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.* 8:598. doi: 10.3389/fimmu.2017.00598
9. Study of immunocompetent organs of hypotrophic piglets against the background of the use of species-specific recombinant interferon / E. V. Mikhailov, B. V. Shabunin, A. V. Nekrasov [et al.] // Veterinary Science of Kuban. - 2024. - No. 6. - P. 24-28. - DOI 10.33861/2071-8020-2024-6-24-28. - EDN BFYJMS.

УДК: 57.044

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.133

ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У КРЫС В ДИНАМИКЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ И ПРИМЕНЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛА

Гизатуллина А.А.^{1*} – мл. науч. сотр. лаб. генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных (ORCID 0000-0002-7321-0864); Смолянкин Д.А.¹ – мл. науч. сотр. лаб. токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных (ORCID 0000-0002-7957-2399); Каримов Д.О.^{1,2} – канд. мед. наук, зав. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных, вед. науч. сотр. отд. исследований общественного здоровья (ORCID 0000-0003-0039-6757); Каримов Д.Д.¹ – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных (ORCID 0000-0002-1962-2323); Валова Я.В.¹ – канд. биол. наук, зав. лаб. генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных (ORCID 0000-0001-6605-9994); Хуснутдинова Н.Ю.¹ – науч. сотр. лаб. токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных (ORCID 0000-0001-5596-8180).

¹ ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт
медицины труда и экологии человека»

² ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья
имени Н.А. Семашко»

* alinagisa@yandex.ru

Ключевые слова: парацетамол, хронический стресс, доска с отверстиями, горизонтальная активность, вертикальная активность, открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт.

Key words: paracetamol, chronic stress, hole board, horizontal activity, vertical activity, open field, elevated plus maze.

Финансирование: Отраслевая научно-исследовательская программа Роспотребнадзора на 2021-2025 годы «Научное обоснование национальной системы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия, управления рисками здоровью и повышения качества жизни населения России», по теме: 6.9.1.2 «Изучение воздействия химического производственного фактора в условиях хронического стресса» № НИОКТР ИИ24021200153-3

Поступила: 31.01.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Оценка поведения крыс в экспериментальных исследованиях имеет важное значение для понимания нейрофизиологических и психофармакологических

ческих процессов. Целью настоящего исследования является изучение влияния парацетамола на поведенческие реакции лабораторных крыс в условиях хронического стресса. В рамках проводимого исследования были сформированы четыре группы белых аутбредных крыс (N=48). Для проведения статистического анализа данных было использовано специализированное ПО IBM SPSS Statistics версии 21. Проверка нормальности распределения осуществлялась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Далее данные подвергались оценке посредством однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), при этом для множественных сравнений применялись критерии Тьюки и Тамхейна. Основное внимание уделяется оценке изменений в когнитивной и эмоциональной сферах поведения животных, а также анализу возможных нейропротективных свойств парацетамола в условиях длительного стрессорного воздействия. В рамках данной статьи описываются изменения поведенческих реакций животных из разных групп для объективной оценки влияния препарата на уровни тревожности, депрессии, агрессивности и когнитивных функций у крыс, находящихся в условиях хронического стресса. Описывается поведение крыс на доске с отверстиями, в клетке для измерения активности, тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» в течение четырех недель исследования на фоне приема водного раствора парацетамола. Результаты исследования подтверждают гипотезу о том, что сочетание стресса и приема парацетамола оказывает существенное влияние на поведенческую активность лабораторных крыс. Это проявляется в снижении вертикальной и горизонтальной активности, изменении поведения в приподнятом крестообразном лабиринте и уменьшении подвижности в открытом поле. Полученные данные могут служить основой для дальнейших исследований механизмов взаимодействия стресса и фармакологических препаратов на центральную нервную систему животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Оценка поведения крыс в экспериментальных исследованиях имеет важное значение для понимания нейрофизиологических и психофармакологических процессов. Крысы являются стандартной моделью для изучения различных аспектов поведения, включая тревожность, депрессию и когнитивные функции, благодаря их генетической однородности и хорошо изученной нейробиологии. В частности, при исследовании влияния парацетамола в условиях стресса важно оценивать поведенческие изменения, так как стресс может значительно модифицировать реакцию организма на фармакологические агенты [1, 2, 3].

Изучение взаимодействия между парацетамолом и стрессом в контексте поведенческих тестов, таких как «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт», позволяет выявить изменения в тревожности и исследовательской активности крыс [4]. Эти тесты помогают оценить не только уровень стресса, но и его влияние на когнитивные функции и

общее состояние здоровья животных [5]. Использование поведенческих тестов применяется и при оценке токсичности веществ [6, 7]. Понимание того, как стресс влияет на поведение крыс при введении парацетамола, может иметь важные клинические последствия и способствовать разработке более безопасных терапевтических стратегий для управления болевыми синдромами у животных и людей.

Целью настоящего исследования является изучение влияния парацетамола на поведенческие реакции лабораторных крыс в условиях хронического стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В рамках проводимого исследования были сформированы четыре группы белых аутбредных крыс (N=48). Дизайн исследования представлен в таблице (таблица 1).

Условия хронического стресса создавались по аналогии с работой Matisz [8]. В течение четырех недель животные из групп II и IV подвергались воздействию

легких и непредсказуемых стрессоров, не более двух стрессоров в сутки. Стрессорами являлись: социальный стресс (размещение животных в одиночные прозрачные клетки, до 12 часов); иммобилизация (размещение животных в горизонтальном положении в иммобилизационных камерах, 0,5-2 часа); воздействие шума (размещение животных в помещении с источником шума громкостью 80 дБ, 2 часа); воздействие света (размещение животных в комнате со включенным светом в ночное время, 12 часов); пищевая и питьевая депривация (размещение животных в клетках без пищи или без поилки, 24 часа).

Введение парацетамола животным из групп III и IV производилось перорально один раз в сутки в первой половине дня после взвешивания в виде водного раствора в дозировке 1000 мг/кг массы тела (100 мг/см³). Особи из I и II групп по аналогичной схеме получали дистиллированную воду эквивалентно.

Один раз в неделю (итого 4 раза) животные всех групп принимали участие в определении поведенческих показателей по четырем поведенческим тестам. С помощью специализированной доски с отверстиями 4*4 («UgoBasil», Италия) оценивалось количество опусканий морды в отверстия за (количество заглядываний), в многофункциональной клетке для оценки общей активности измерялось количество актов вертикальной (подъем на задние лапы) и горизонтальной активности (перемещения на всех четырех лапах),

также были использованы установки «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Открытое поле» с системой видеотрекинга «ANY-maze» (Sloelting and Co., США).

Животные (вне стрессовых воздействий по расписанию) содержались в стандартизированных условиях лабораторного вивария с постоянной комнатной температурой, влажностью и автоматическим искусственным 12-часовым освещением в дневное время (8:00-20:00). Все процедуры с крысами проводились строго в соответствии с принципами гуманного и бережного обращения с животными, установленными «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным.

Для проведения статистического анализа данных было использовано специализированное ПО IBM SPSS Statistics версии 21 (разработчик – компания IBM, США). Проверка нормальности распределения осуществлялась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Далее данные подвергались оценке посредством однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), при этом для множественных сравнений применялись критерии Тьюки и Тамхейна. Результаты представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего. Уровень статистической значимости (p) был установлен на уровне 0.05.

Таблица 1 – Дизайн исследования

Группа, количество особей	Тип воздействия
I 12	Отрицательный контроль
II 12	Хронический стресс
III 12	Парацетамол
IV 12	Парацетамол + хронический стресс

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты поведенческих тестов представлены в таблице (таблица 2). Для тестов «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» были выбраны основные показатели.

В тесте с использованием доски с отверстиями оценивалось количество опусканий головы крысами в течение 5 минут. Статистический анализ по данному показателю не выявил статистически значимых различий.

Таблица 2 – Результаты поведенческих тестов

Группа	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя
Доска с отверстиями: количество заглядываний в отверстия				
I	22,8±2,10	22,6±3,73	24,4±3,51	19,7±2,37
II	19,7±2,21	21,9±2,35	21,0±2,18	14,9±2,59
III	16,1±2,44	21,9±2,89	19,2±3,24	14,4±3,17
IV	19,7±2,14	19,1±2,55	16,3±2,70	18,2±3,00
Многофункциональная клетка для измерения общей двигательной активности: количество движений в горизонтальной плоскости; количество движений в вертикальной плоскости				
I	936,10±98,57; 518,7±60,46	916,8±78,53; 428,9±70,93	841,9±71,61; 425,6±47,28	836,1±81,63; 381,4±58,11
II	960,6±71,94; 502,0±46,59	837,2±93,01; 341,4±72,52	995,7±119,28; 405,7±82,73	872,2±113,59; 365,7±82,90
III	834,22±105,87; 360,89±74,00	848,6±84,34; 441,9±74,23	830,78±131,58; 368,6±107,80	701,8±94,68; 324,7±97,87
IV	616,9±84,51; 248,8±58,84* **	854,1±31,07; 381,3±36,79	912,5±65,38; 362,4±45,98	733,7±62,04; 283,0±36,75
Приподнятый крестообразный лабиринт: количество заходов в закрытые рукава; время, проведенное в закрытых рукавах.				
I	29,5±2,20; 36,4±9,44	54,8±10,92; 42,4±7,87	34,8±6,68; 25,4±5,20	46,0±6,32; 42,57±6,7
II	31,7±3,48; 40,7±7,41	57,0±8,72; 49,6±5,65	65,0±12,38; 44,35±6,60	64,7±5,59; 42,5±5,05
III	30,9±11,82; 41,2±5,45	47,1±7,84; 38,5±7,49	47,0±7,52; 43,4±10,34	57,2±3,85; 48,4±8,02
IV	29,1±13,45; 44,0±8,95	45,3±6,50; 42,4±6,01	27,2±4,63**; 20,2±3,55**	35,7±6,47**; 20,0±7,21
Приподнятый крестообразный лабиринт: количество заходов в открытые рукава; время, проведенное в открытых рукавах.				
I	48,9±6,05; 116,5±6,41	51,5±13,28; 83,1±10,90	56,1±9,74; 86,9±15,01	79,5±13,83; 93,3±8,77
II	41,3±3,91; 190,8±11,34	71,7±15,30; 104,1±13,67	63,1±4,83; 118,1±11,31	79,2±4,90; 107,3±7,98
III	30,4±2,22*; 111,6±16,88	51,8±6,73; 92,8±17,04	69,8±15,68; 101,8±12,20	86,9±20,01; 99,8±9,67
IV	34,4±3,41; 103,1±11,02	62,3±6,91; 99,1±11,18	55,2±7,14; 91,8±13,16	52,6±5,64; 87,0±13,35
Открытое поле: общая дистанция; средняя скорость				
I	25,5±2,47; 0,09±0,03	22,7±3,43; 0,08±0,01	19,6±4,75; 0,06±0,01	19,6±3,98; 0,07±0,01
II	25,7±2,31; 0,08±0,01	24,1±2,64; 0,08±0,01	22,5±3,24; 0,08±0,01	21,8±3,03; 0,07±0,01
III	17,5±3,05; 0,06±0,01	26,8±3,91; 0,09±0,01	19,1±2,65; 0,06±0,01	26,5±6,71; 0,09±0,02
IV	14,9±1,81* **; 0,05±0,01* **	22,0±1,90; 0,07±0,01	35,1±15,97; 0,12±0,03	28,3±7,85; 0,08±0,01

При оценке горизонтальной активности животных были обнаружены различия между группами ($F=2,920$, $p=0,048$). Однако при попарном сравнении обнаружены только тенденции, приближающие имеющиеся различия к уровню статистической значимости: группы I и IV ($p=0,081$), группы II и IV ($p=0,053$). Анализ вертикальной активности также показал наличие статистически значимых различий между исследуемыми группами ($F=4,606$, $p=0,008$). В первую неделю значение исследуемого показателя в группе, подверженной сочетанному воздействию стресса и парацетамола, оказалось ниже, чем в группе контроля ($p=0,014$) и в группе, получавшей только стресс ($p=0,023$).

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» оценивалось количество заходов и время, проведенное в открытых и закрытых рукавах за 5 минут. При оценке показателя «Количество заходов в закрытые рукава» обнаружены статистически значимые различия между группами на третье ($F=3,994$, $p=0,015$) и четвертой неделе ($F=4,997$, $p=0,005$). При попарном сравнении на третьей неделе отмечалось снижение количества заходов в исследуемую область в группе IV по сравнению с группой II ($p=0,013$), что продолжилось и на четвертой неделе ($p=0,005$). Аналогичная статистическая картина представлена по третьей неделе по показателю «Время, проведенное в закрытых рукавах» ($p=0,037$).

При оценке показателя «Количество заходов в открытые рукава» обнаружены статистически значимые различия между группами ($F=3,758$, $p=0,019$). Значение показателя на первой неделе в группе контроля было ниже, чем в группе, в которой животные получали парацетамол без дополнительного воздействия стресс-факторов ($p=0,019$). По показателю «Время, проведенное в открытых рукавах» статистически значимых различий обнаружено не было.

В тесте «Открытое поле» оценивали общую пройденную дистанцию животных за 5 минут. Статистический анализ показал достоверные различия между

группами на первой неделе ($F=5,122$, $p=0,005$). В группе IV значение показателя было ниже, чем в группах I ($p=0,020$) и II ($p=0,018$). По показателю «Средняя скорость» также обнаружены статистически значимые различия между группами в первую неделю ($F=5,098$, $p=0,005$). Так, у животных из группы с сочетанным воздействием изучаемых факторов была зафиксирована более низкая скорость, чем в группе контроля ($p=0,020$), в группе, подверженной только стрессовым факторам ($p=0,013$).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Стрессоры различной природы вызывают комплекс физиологических и поведенческих реакций, направленных на адаптацию организма к изменившимся условиям и поддержание гомеостаза [9]. Длительное воздействие хронического стресса способствует активации воспалительных процессов, которые предположительно приводят к ослаблению нейронных связей [10]. У крыс, находящихся под влиянием стрессовых факторов, активная исследовательская деятельность часто сменяется состоянием повышенной тревоги, проявляющейся в увеличении периодов пассивного поведения. Ученые подчеркивают значимость частоты и силы стрессовых воздействий на характер последствий для организма. Продолжаются исследования, направленные на выявление связи между определенными характеристиками эмоциональных стрессоров и специфическими физиологическими ответами, а также на разработку адекватных количественных параметров для оценки вызванных стрессом изменений [9, 11]. Последствия острого и хронического стресса можно наблюдать через изменения поведения животных в различных этологических тестах, каждый из которых обладает своими достоинствами и ограничениями [12].

Горизонтальная и вертикальная активность крыс изменялись под влиянием экспериментальных условий. Особенно заметны изменения в вертикальной активности на первой неделе эксперимента, где группа, подвергшаяся сочетанному воз-

действию стресса и парацетамола, показала значительное снижение активности по сравнению с контролем и группой, испытывающей только стресс. Изменения, отмеченные на первой неделе, могут являться маркерами первых стрессовых и химических воздействий на нервную систему, что в дальнейшем нивелируется адаптационными механизмами организма.

Общая пройденная дистанция и средняя скорость движения крыс в тесте «Открытое поле» показали значимые различия уже на первой неделе эксперимента. Группа, подвергавшаяся сочетанному стрессу и парацетамолу, демонстрировала сниженную двигательную активность по сравнению с контрольной группой и группой, находящейся под воздействием только стресса. Показатели данного теста являются информативными и адаптивными для различного типа исследований [13], в том числе при изучении сочетанного влияния стресса и химического фактора [14].

Оценка показателей крестообразного лабиринта является актуальным инструментом для анализа тревожности [15, 16]. Показатели поведения крыс в приподнятом крестообразном лабиринте демонстрируют статистически значимые различия между группами, начиная с третьей недели эксперимента. Это выражается в снижении количества заходов в закрытые рукава в группе, подвергшейся сочетанному воздействию стресса и парацетамола, по сравнению с другими группами. Время, проведённое в закрытых рукавах, также отражает аналогичные изменения, указывая на изменение тревожного состояния животных.

Результаты данного исследования подтверждают гипотезу о том, что сочетание стресса и приёма парацетамола оказывает влияние на поведенческую активность лабораторных крыс. Это проявляется в снижении вертикальной и горизонтальной активности, изменении поведения в приподнятом крестообразном лабиринте и уменьшении подвижности в открытом поле. Полученные данные могут

служить основой для дальнейших исследований механизмов взаимодействия стресса и фармакологических препаратов на центральную нервную систему животных.

STUDY OF BEHAVIORAL CHANGES IN RATS IN DYNAMICS UNDER CHRONIC STRESS AND PARACETAMOL USE

Gizatullina A.A.^{1*} – Junior Researcher, Laboratory of Genetics, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Clinic of Laboratory Animals (ORCID 0000-0002-7321-0864); **Smolyankin D.A.**¹ – Junior Researcher, Laboratory of Toxicology, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Clinic of Laboratory Animals (ORCID 0000-0002-7957-2399); **Karimov D.O.**^{1,2} – PhD, Head of the Toxicology and Genetics Department with an Experimental Clinic of Laboratory Animals, Leading Researcher, Public Health Research Department, (ORCID 0000-0003-0039-6757); **Karimov D.D.**¹ – PhD, Senior Researcher, Genetics Laboratory, Toxicology and Genetics Department with an Experimental Clinic of Laboratory Animals (ORCID 0000-0002-1962-2323); **Valova Ya.V.**¹ – PhD, Head of the Laboratory of Genetics, Department of Toxicology and Genetics with an Experimental Clinic of Laboratory Animals (ORCID 0000-0001-6605-9994); **Khusnutdinova N.Yu.**¹ – Researcher, Laboratory of Toxicology, Department of Toxicology and Genetics with an Experimental Clinic of Laboratory Animals (ORCID 0000-0001-5596-8180).

¹ Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology,

² National Research Institute of Public Health named after N.A. Semashko

* alinagisa@yandex.ru

Financing: Industry research program of Rospotrebnadzor for 2021-2025 "Scientific substantiation of the national system for ensuring sanitary and epidemiological well-being, managing health risks and improving the quality of life of the popu-

lation of Russia", on the topic: 6.9.1.2 "Study of the impact of chemical production factors under conditions of chronic stress" No. NIOKTR II24021200153-3

ABSTRACT

Evaluation of rat behavior in experimental studies is important for understanding neurophysiological and psychopharmacological processes. The aim of this study is to investigate the effect of paracetamol on the behavioral responses of laboratory rats under chronic stress. Four groups of white outbred rats (N=48) were formed within the framework of the study. For statistical analysis of the data, specialized IBM SPSS Statistics version 21 software was used. The normality of distribution was checked using the Kolmogorov-Smirnov criterion. The data were then evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA), with Tukey and Tamhane criteria used for multiple comparisons. The focus is on assessing changes in the cognitive and emotional spheres of animal behavior, as well as analyzing the possible neuroprotective properties of paracetamol under long-term stress exposure. This article describes changes in the behavioral responses of animals from different groups to objectively assess the effect of the drug on the levels of anxiety, depression, aggression and cognitive functions in rats under chronic stress. The behavior of rats on a board with holes, in a cage for measuring activity, in the Open Field and Elevated Plus Maze tests during a four-week study against the background of taking an aqueous solution of paracetamol is described. The results of this study confirm the hypothesis that the combination of stress and paracetamol intake has a significant effect on the behavioral activity of laboratory rats. This is manifested in a decrease in vertical and horizontal activity, changes in behavior in the elevated plus maze and a decrease in mobility in the open field. The obtained data can serve as a basis for further studies of the mechanisms of interaction between stress and pharmacological drugs on the central nervous system of animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Горшков, А. Н. Морфологические аспекты нефротоксического действия нестероидных противовоспалительных средств / А. Н. Горшков, И. В. Марусов, О. Д. Ягмуров, Ю. Д. Игнатов, Н. А. Кузнецова, Ю. А. Петрова // Нефрология. — 2013. — Т. 17, № 1. — С. 73–77. — DOI 10.24884/1561-6274-2013-17-1-73-77.
2. Крышень, К. Л. Экспериментальное исследование фармакологической безопасности лекарственных средств, применяемых для купирования лихорадочного синдрома в детском возрасте / К. Л. Крышень, А. Е. Мошков, М. Н. Демяновский, М. А. Ковалёва // Безопасность и риск фармакотерапии. — 2020. — Т. 8, № 3. — С. 151–159. — DOI 10.30895/2312-7821-2020-8-3-151-159.
3. Власова, Ю. А. Исследование нейротоксичности парацетамола и его метаболита NAPQI (краткое сообщение) / Ю. А. Власова, Н. Э. Голованова, Ч. Р. Бейшебаева, К. А. Загородникова, М. Н. Соколова, В. А. Дадали, Ж. В. Антонова // Лабораторные животные для научных исследований. — 2021. — № 4. — DOI 10.29296/2618723X-2021-04-09.
4. Bai, T. Construction and evaluation of a rat model of postpartum fatigue / T. Bai, F. Wu, S. Yan, F. Zhang, X. Xu // Gynecol Obstet Invest. — 2021. — Vol. 86, No. 4. — P. 370–378. — DOI 10.1159/000517997.
5. Carola, V. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice / V. Carola, F. D'Olimpio, E. Brunamonti, F. Mangia, P. Renzi // Behav Brain Res. — 2002. — Vol. 134, Nos. 1–2. — P. 49–57. — DOI 10.1016/S0166-4328(01)00452-1.
6. Mineshima, H. Comparative study on detectability of learning and memory disorder between two water maze tests commonly used in juvenile rat toxicity studies using isoflurane-inhaled rat model / H. Mineshima, H. Kimoto, M. Hitomi, F. Akizawa, Y. Terayama, T. Yoshikawa // Congenit Anom (Kyoto). — 2022. — Vol. 62, No. 3. — P. 96–104. — DOI 10.1111/cga.12460.
7. Brito, R. C. Static magnetic field blocked alprazolam-induced behavior of Wistar rats

- in the elevated plus-maze test / R. C. Brito, T. Olivato, T. T. Kitabatake, K. Zhang, E. C. de Oliveira Guirro, J. E. de Araujo // *Neurosci Lett.* — 2023. — Vol. 794. — Art. no. 137013. — DOI 10.1016/j.neulet.2022.137013.
8. Matisz, C. E. Chronic unpredictable stress shifts rat behavior from exploration to exploitation / C. E. Matisz, C. A. Badenhorst, A. J. Gruber // *Stress.* — 2021. — Vol. 24, No. 5. — P. 635–644. — DOI 10.1080/10253890.2021.1883323.
9. Molina, P. Restraint or immobilization: A comparison of methodologies for restricting free movement in rodents and their potential impact on physiology and behavior / P. Molina, R. Andero, A. Armario // *Neurosci Biobehav Rev.* — 2023. — Vol. 151. — Art. no. 105224. — DOI 10.1016/j.neubiorev.2023.105224.
10. Woo, E. Chronic stress weakens connectivity in the prefrontal cortex: Architectural and molecular changes / E. Woo, L. H. Sansing, A. F. T. Arnsten, D. Datta // *Chronic Stress (Thousand Oaks).* — 2021. — Vol. 5. — Art. no. 24705470211029254. — DOI 10.1177/24705470211029254.
11. Armario, A. Focusing attention on biological markers of acute stressor intensity: Empirical evidence and limitations / A. Armario, J. Labad, R. Nadal // *Neurosci Biobehav Rev.* — 2020. — Vol. 111. — P. 95–103. — DOI 10.1016/j.neubiorev.2020.02.001.
12. Himanshu. A review of behavioral tests to evaluate different types of anxiety and anti-anxiety effects / Himanshu, Dharmila, D. Sarkar, Nutan // *Clin Psychopharmacol Neurosci.* — 2020. — Vol. 18, No. 3. — P. 341–351. — DOI 10.9758/cpn.2020.18.3.341.
13. Бзыков, О. Использование различных поведенческих моделей при исследовании реакции крыс в условиях воздействия отрицательных аэроионов / О. Бзыков, М. Марзоева, З. Хабаев, В. Гаппоева, З. Оказова, С. Скупневский // *Сибирский журнал наук о жизни и сельском хозяйстве.* — 2022. — Т. 14, № 6. — С. 92–106. — DOI 10.12731/2658-6649-2022-14-6-92-106.
14. Лосева, Е. В. Поведение крыс в тестах на тревожность при непродолжительном интраназальном введении одностенных углеродных нанотрубок в двух небольших дозах / Е. В. Лосева, Н. А. Логинова, Л. И. Руссу, М. В. Мезенцева // *Российский физиологический журнал имени И. М. Сеченова.* — 2022. — Т. 108, № 11. — С. 1525–1541.
15. Федосова, Е. А. Влияние метилбогачённой диеты матери на число дофаминовых нейронов в вентральной тегментальной области мозга у взрослого потомства крыс линии WAG/Rij / Е. А. Федосова, Н. А. Логинова, К. Ю. Саркисова // *Российский физиологический журнал имени И. М. Сеченова.* — 2023. — Т. 109, № 7. — С. 902–920.
16. Степаничев, М. Ю. Хронический стресс, вызванный содержанием в условиях дефицита гнездового материала в раннем постнатальном периоде, оказывает влияние на поведение и стрессреактивность самцов крыс / М. Ю. Степаничев, О. А. Недогреева, М. А. Климанова, Ю. В. Моисеева, М. В. Онуфриев, Н. А. Лазарева, Н. В. Гуляева // *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова.* — 2021. — Т. 71, № 3. — С. 370–376.

REFERENCES

1. Gorshkov, A.N. Morphological aspects of nephrotoxic action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs / A.N. Gorshkov, I.V. Marusov, O.D. Yagmurov et al. // *Nephrologiya.* — 2013. — Vol. 17, No. 1. — pp. 73–77. — DOI 10.24884/1561-6274-2013-17-1-73-77. (In Russ.)
2. Krishen', K.L. Experimental study of pharmacological safety of medicines used for fever reduction in children / K.L. Krishen', A.E. Moskov, M.N. Dem'yanovskiy et al. // *Bezopasnost' i risk farmakoterapii.* — 2020. — Vol. 8, No. 3. — pp. 151–159. — DOI 10.30895/2312-7821-2020-8-3-151-159. (In Russ.)
3. Vlasova, Yu.A. Study of neurotoxicity of paracetamol and its metabolite NAPQI (brief report) / Yu.A. Vlasova, N.E. Golovanova, Ch.R. Beishbebaeva et al. // *Laboratornye*

- zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy. — 2021. — No. 4. — DOI 10.29296/2618723X-2021-04-09. (In Russ.)
4. Bai, T. Construction and evaluation of a rat model of postpartum fatigue / T. Bai, F. Wu, S. Yan et al. // *Gynecol Obstet Invest.* — 2021. — Vol. 86, No. 4. — pp. 370–378. — DOI 10.1159/000517997.
5. Carola, V. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for assessing anxiety-related behaviors in inbred mice / V. Carola, F. D'Olimpio, E. Brunamonti et al. // *Behav Brain Res.* — 2002. — Vol. 134, Nos. 1–2. — pp. 49–57. — DOI 10.1016/S0166-4328(01)00452-1.
6. Mineshima, H. Comparative study on detectability of learning and memory disorders between two common water maze tests in juvenile rat toxicity studies using an isoflurane-inhaled rat model / H. Mineshima, H. Kimoto, M. Hitomi et al. // *Congenit Anom (Kyoto).* — 2022. — Vol. 62, No. 3. — pp. 96–104. — DOI 10.1111/cga.12460.
7. Brito, R.C. Static magnetic field blocks alprazolam-induced behavior of Wistar rats in the elevated plus-maze test / R.C. Brito, T. Olivato, T.T. Kitabatake et al. // *Neurosci Lett.* — 2023. — Vol. 794. — Art. no. 137013. — DOI 10.1016/j.neulet.2022.137013.
8. Matisz, C.E. Chronic unpredictable stress shifts rat behavior from exploration to exploitation / C.E. Matisz, C.A. Badenhorst, A.J. Gruber // *Stress.* — 2021. — Vol. 24, No. 5. — pp. 635–644. — DOI 10.1080/10253890.2021.1883323.
9. Molina, P. Restraint or immobilization: A comparison of methodologies for restricting free movement in rodents and their potential impact on physiology and behavior / P. Molina, R. Andero, A. Armario // *Neurosci Biobehav Rev.* — 2023. — Vol. 151. — Art. no. 105224. — DOI 10.1016/j.neubiorev.2023.105224.
10. Woo, E. Chronic stress weakens connectivity in the prefrontal cortex: Architectural and molecular changes / E. Woo, L.H. Sansing, A.F.T. Arnsten et al. // *Chronic Stress (Thousand Oaks).* — 2021. — Vol. 5. — Art. no. 24705470211029254. — DOI 10.1177/24705470211029254.
11. Armario, A. Focusing attention on biological markers of acute stressor intensity: Empirical evidence and limitations / A. Armario, J. Labad, R. Nadal // *Neurosci Biobehav Rev.* — 2020. — Vol. 111. — pp. 95–103. — DOI 10.1016/j.neubiorev.2020.02.001.
12. Himanshu. A review of behavioral tests to evaluate different types of anxiety and anti-anxiety effects / Himanshu, Dharmila, D. Sarkar, Nutan // *Clin Psychopharmacol Neurosci.* — 2020. — Vol. 18, No. 3. — pp. 341–351. — DOI 10.9758/cpn.2020.18.3.341.
13. Bzykow, O. Use of various behavioral models when studying the reaction of rats under exposure to negative air ions / O. Bzykow, M. Marzoeva, Z. Khabaev et al. // *Sibirskiy zhurnal nauk o zhizni i sel'skom khozyaistve.* — 2022. — Vol. 14, No. 6. — pp. 92–106. — DOI 10.12731/2658-6649-2022-14-6-92-106. (In Russ.)
14. Loseva, E.V. Behavior of rats in anxiety tests after short-term intranasal administration of single-walled carbon nanotubes at low doses / E.V. Loseva, N.A. Loginova, L.I. Russu et al. // *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni I.M. Sechenova.* — 2022. — Vol. 108, No. 11. — pp. 1525–1541. (In Russ.)
15. Fedosova, E.A. Effect of methyl-enriched maternal diet on dopaminergic neuron number in ventral tegmental area of adult offspring brain in WAG/Rij line rats / E.A. Fedosova, N.A. Loginova, K.Yu. Sarkisova // *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni I.M. Sechenova.* — 2023. — Vol. 109, No. 7. — pp. 902–920. (In Russ.)
16. Stepanichev, M.Yu. Chronic stress caused by nesting material deficiency during early postnatal period affects male rat behavior and stress reactivity / M.Yu. Stepanichev, O.A. Nedogreeva, M.A. Klimanova et al. // *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti imeni I.P. Pavlova.* — 2021. — Vol. 71, No. 3. — pp. 370–376. (In Russ.)

УДК: 577.11

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.142

АППЛИКАЦИОННАЯ БИОПОЛИМЕРНАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА С РАСТИТЕЛЬНЫМИ ЭКСТРАКТАМИ

Метлева А.С.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарной медицины и биотехнологий (ORCID 0009-0001-5454-8122)

ФГБОУ ВО «Кузбасский государственный аграрный университет
имени В.Н. Полецовка»

*zveryski@mail.ru

Ключевые слова: аппликации, лекарственная форма, биологически активные вещества, растительные экстракты, антибиотикорезистентность, биологические полимеры.

Keywords: applications, dosage form, biologically active substances, plant extracts, antibiotic resistance, biological polymers.

Поступила: 22.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Развитие фармацевтической индустрии связано напрямую с изменяющимися условиями труда на промышленных комплексах. Интенсификация производства повышает не только продуктивность животных, но и производительность труда. Поэтому применение лекарственных препаратов в животноводстве должно быть удобным, простым и пролонгированным. С этой целью разработана рецептура аппликационной лекарственной формы на основе биополимеров, с добавлением экстрактов лекарственных трав, обладающая вязкопластичной, однородной консистенцией, с равномерным распределением и адсорбцией на коже, без адгезии на кожных покровах и возможностью высвобождения действующего вещества полимерной композицией на протяжении заданного времени. Аппликационные лекарственные формы способны поддерживать постоянную концентрацию действующего вещества (ДВ) в месте аппликации долгое время, создавая высокие концентрации ДВ в клетках. Для разработки данной лекарственной формы проведены эксперименты с различными полимерами (желатин, крахмал, агар-агар) и сухими экстрактами лекарственных растений. В результате установлено, что наиболее оптимальными составляющими аппликационной лекарственной формы является комбинация из желатина, крахмала, сухих экстрактов корня алтея, коры дуба. Биодоступность аппликационной лекарственной формы оценивали по кинетике диффузии активных компонентов в агар, путём регистрации поперечного распределения при температурах 25°C и 37°C. О степени высвобождения активных компонентов аппликационной лекарственной формы судили по диаметру окрашенных зон, который измеряли через 1, 2, 3 и 4 часа. В результате исследований возможности высвобождения действующего вещества из полимерной композиции, установлена плавная диффузия действующего вещества из аппликационной лекарственной формы по поперечному распределению и уровню проникновения в агар по времени. Лекарственные травы в данной композиции выполняют роль биологически активных веществ, а также являются формообразующими компонентами.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Актуальность развития фарминдустрии связана с изменяющимися условиями различных факторов, влияющих на производственные процессы в животноводстве. В частности, интенсификация производства направляет исследования на поиск новых лекарственных средств (ЛС), а также на совершенствование уже существующих и создание новых лекарственных форм (ЛФ), не требующих использования технологически сложного оборудования, характеризующиеся простотой применения лекарственных препаратов (ЛП). Такие ЛП могут применяться в виде аппликации на коже, слизистых оболочках или поверхности ран, иметь пролонгированное действие и минимизировать кратность приема ЛП, тем самым снижая трудозатраты обслуживающего персонала.

Аппликационные лекарственные формы способны поддерживать постоянную концентрацию действующего вещества (ДВ) в месте аппликации долгое время, создавая высокие концентрации ДВ в клетках. Но, в случае наступления нежелательных побочных явлений, ЛП может быть удален в любой момент, предотвращая дальнейшее поступление ДВ в организм. Парентеральный способ применения аппликационной ЛФ характеризуется отсутствием разрушения ЛВ в среде желудочно-кишечного тракта, и нежелательных побочных эффектов раздражения слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [1, 2, 3].

В состав аппликационных ЛП, в зависимости от назначения, могут входить различные компоненты, в т.ч. антибиотики [4, 10], продукты пчеловодства, экстракты лекарственных трав, а также эфирные масла [1, 3], оказывающие антимикробный, противовирусный, иммуномодулирующий, анальгезирующий, анестезирующий эффекты [3, 4, 5].

Аппликационные ЛФ могут применяться в виде локально действующих препаратов или трансдермальных терапевтических систем, которые можно отнести к дозированной лекарственной форме [1].

Несмотря на активно проводимые учеными исследования по разработке аппликационных лекарственных форм, на фармацевтическом рынке эта форма выпуска представлена относительно ограниченно [5].

При разработке биополимерных аппликационных ЛФ на первоначальном этапе необходимо осуществить подбор полимерной основы. Полимерная основа должна обеспечивать адсорбцию на поверхности кожи и слизистых, удерживаться на них долгое время, что в свою очередь позволит равномерно высвободить лекарственное вещество с нарастающей концентрацией [1]. Целью настоящей работы явилось разработка аппликационной ЛФ на основе биологических полимеров, с возможностью равномерного распределения и высвобождения действующего вещества, с адсорбцией на коже, без адгезии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Разработка аппликационной лекарственной формы производилось на базе научно-исследовательской лаборатории «Биохимических, молекулярно-генетических исследований и селекции сельскохозяйственных животных» Кузбасского ГАУ.

Подбор полимерной основы. Для приготовления лекарственной формы исследовались различные биологические полимеры: крахмал, желатин, агар-агар, а также сухие экстракты корня алтея и коры дуба, в качестве вспомогательных компонентов и действующих веществ, как в монокомпонентном варианте, так и в различных сочетаниях друг с другом.

Определение биодоступности ДВ из полимерной основы. Биодоступность аппликационной лекарственной формы оценивали по кинетике диффузии активных компонентов в агар, путём регистрации поперечного распределения при температурах 25°C и 37°C. О степени высвобождения активных компонентов аппликационной лекарственной формы судили по диаметру окрашенных зон, который измеряли через 1, 2, 3 и 4 часа.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При проведении ряда опытов было установлено, что монокомпонентная полимерная основа (на основе крахмала или желатина или агар-агара) не соответствует всем заявленным требованиям. Наиболее оптимальная полимерная основа получается при сочетании полимеров крахмала, желатина, в сочетании с сухим экстрактом коры дуба и сухим экстрактом корня алтея в равных частях, растворенных в дистиллированной воде. Полученная полимерная основа обладала вязкопластичной консистенцией, адсорбировалась на коже без адгезии, тянулась и была прочной на разрыв, с равномерным высвобождением действующего вещества (Рис.1).

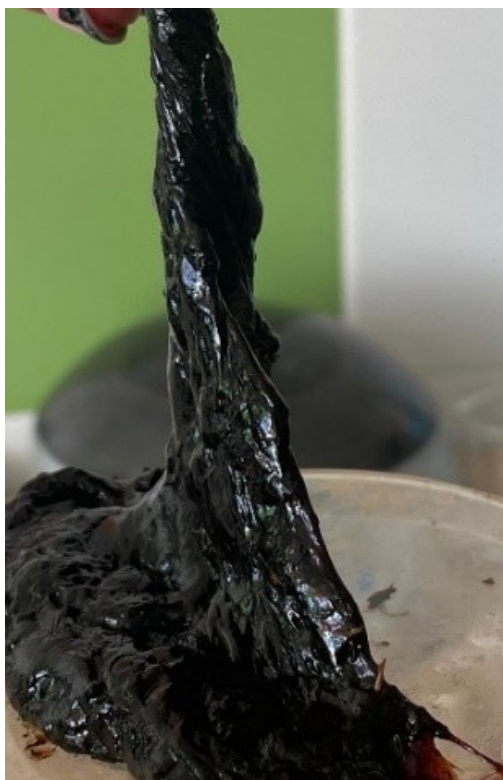


Рисунок 1 – Определение заявленных свойств аппликационной лекарственной формы органолептическим методом.

В результате исследований возможности высвобождения действующего вещества из полимерной композиции, установлена плавная диффузия действующего вещества из аппликационной лекарственной формы по поперечному распределению и уровню проникновения в агар во времени. Т.е. аппликационная лекарственная форма обеспечивает биологическую доступность биологически активных веществ, максимальное высвобождение которых наблюдалось через 150-200 минут. При температуре 37°C диффузия ДВ происходила быстрее: через час поперечное распределение ДВ составляло 4 см. При 25°C – 2 см. По истечению 4 часов поперечное распределение при 37°C составляло 11 см, при 25°C – 8 см (Рис. 2).

В результате экспериментов установлено, что для достижения заявленной консистенции не подходит монокомпонентная полимерная основа. Для этого необходимо сочетание нескольких полимеров совместно с экстрактами трав, которые выступают в качестве источника биологически активных веществ, а также как формообразующий компонент. ЛФ с заявленными свойствами получилась при смешивании крахмала, желатина, сухих экстрактов корня алтея, коры дуба в дистиллированной воде. Крахмал широко используется в качестве биоразлагаемых, возобновляемых, биосовместимых и нетоксичных полисахаридов, используемых в медицинской практике. Желатин обладает подходящими свойствами для доставки химиотерапевтических веществ, и его легко сшивать с другими соединениями. Материал из желатина функционирует как кожная повязка, которая сочетает в себе более длительное и медленное высвобождение ДВ для ускорения заживления кожи с постепенным высвобождением значительного количества лекарственных средств в течение первых часов использования (для профилактики развития локального инфекционного процесса) [7]. Кора дуба и корень алтея выступают в роли источников биологически активных веществ и формообразующих компонентов. Экстракт корня алтея является источ-

ником полисахаридов. Полисахариды растворимы, имеют вязкость, желеобразующий потенциал. Кроме того, полисахариды обладают различными физиологическими функциями, что делает их очень ценными для применения в тканевой инженерии и регенеративной медицине [9]. Немногочисленные исследования подтверждают эффективность применения коры дуба в качестве наполнителя в поли-

мерных матрицах из-за высокого содержания дубильных веществ, катехина, галлокатехина, флавоноидов и проантоцианидинов, что позволяет применять ее в полимерной промышленности для повышения прочности полимеров. Кроме того, эти соединения действуют как антиоксиданты, природные фунгициды, инсектициды и антисептики [11].

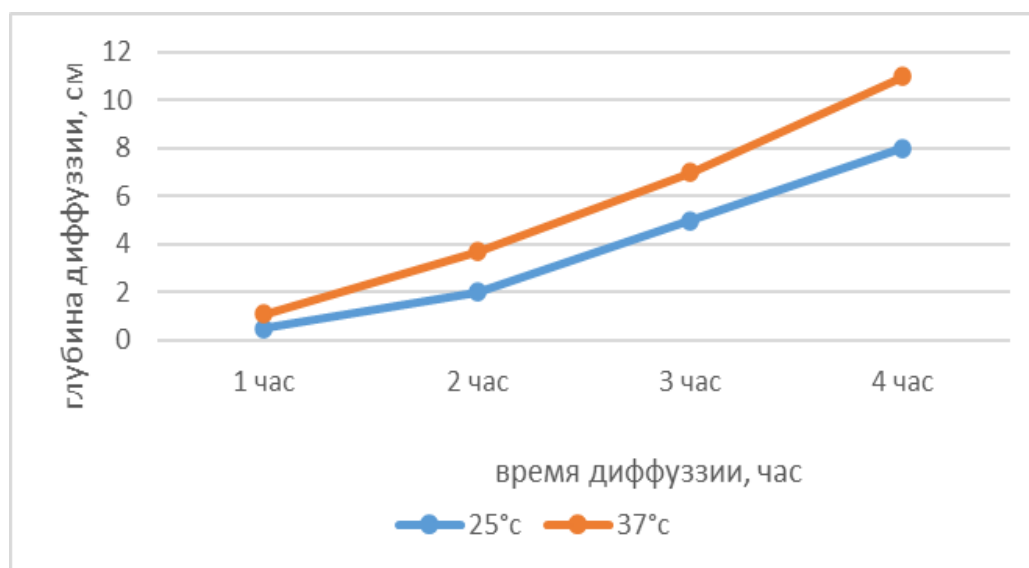


Рисунок 2 – Высвобождение действующих веществ аппликационной лекарственной формы по времени.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Разработанная аппликационная биополимерная лекарственная форма с добавлением сухих экстрактов лекарственных трав на дистиллированной воде обладает заданной консистенцией. Полученная ЛФ вязко-пластичная, тянущаяся, с равномерной адсорбцией на коже, без адгезии. ДВ способно высвобождаться из полимерной основы. Физические свойства полученной ЛФ позволяют применять ее на коже на протяжении длительного времени. Подобранные сухие экстракты лекарственных трав являются действующим веществом и формообразующими компонентами одновременно. В подобные ЛФ можно добавлять различ-

ные компоненты, в т.ч. для использования их в качестве трансдермальных терапевтических средств.

APPLICATION BIOPOLYMER DOSAGE FORM WITH PLANT EXTRACTS

Metleva A.S.* – PhD of veterinary Science, docent (ORCID 0009-0001-5454-8122)

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kuzbass State Agrarian University named after V.N. Poletskov"

*zveryiski@mail.ru

ABSTRACT

The development of the pharmaceutical industry is directly related to changing working conditions in industrial complexes. Intensification of production increases not only animal productivity, but also labor productivity. Therefore, the use of drugs in animal husbandry should be convenient, simple and prolonged. For this purpose, a formulation of an application dosage form based on biopolymers has been developed, with the addition of herbal extracts, which has a viscous-plastic, homogeneous consistency, with uniform distribution and adsorption on the skin, without adhesion to the skin and the ability to release the active substance by the polymer composition over a specified time. Application dosage forms are able to maintain a constant concentration of the active substance (AS) at the site of application for a long time, creating high concentrations of AS in cells. To develop this dosage form, experiments were conducted with various polymers (gelatin, starch, agar-agar) and dry extracts of medicinal plants. As a result, it was established that the most optimal components of the application dosage form are a combination of gelatin, starch, dry extracts of marshmallow root, oak bark. Bioavailability of the application dosage form was assessed by the kinetics of diffusion of active components into agar, by recording the cross-sectional distribution at temperatures of 25°C and 37°C. The degree of release of the active components of the application dosage form was judged by the diameter of the colored zones, which were measured after 1, 2, 3 and 4 hours. As a result of studies of the possibility of releasing the active substance from the polymer composition, smooth diffusion of the active substance from the application dosage form by cross-sectional distribution and the level of penetration into agar over time was established. Medicinal herbs in this composition act as biologically active substances, and are also formative components.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Вдовина Г. П. Влияние новой лекарственной формы бишофита на скорость кровоснабжения в мягких тканях пародонта у крыс в условиях экспериментального воспаления / Г. П. Вдовина, Л. М. Ганичева, Е. В. Меркулова // Пермский медицинский журнал. 2006. Т. 23. №. 2. С. 56-59.
2. Галина А. Р., Зидиханова Л. Ф., Шуршина А. С., Кулиш Е. И. О Возможности создания полимерной формы аппликационной анестезии пролонгированного действия на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы / А. Р. Галина, Л. Ф. Зидиханова, А. С. Шуршина, Е. И. Кулиш // Вестник Башкирск. ун-та. 2019. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/o-vozmozhnosti-sozdaniya-polimernoy-formy-applikatsionnoy-anestezii-prolongirovannogo-deystviya-na-osnove-natrievoy-soli>.
3. Кищенко В. М. Пленки в российской медицине и косметологии: история развития, классификация, технология / В. М. Кищенко // Фармация и фармакология. - 2020. - Т. 8. - №. 2. - С. 124-132.
4. Петрухина Д. А. Исследования по созданию аппликационной системы для лечения раневых процессов / Д. А. Петрухина, И. В. Плетнева, Ю. С. Покровская // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». - 2021. - Т. 23. - №. 2. - С. 74-79.
5. Савченко Л. Н. Методологический подход к выбору полимерных матриц в стоматологических лекарственных пленках с метилурацилом / Л. Н. Савченко // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». - 2008. - Т. 10. - №. 4. - С. 710-712.
6. Шестаков Н. В. Ассортимент и характеристики трансмукозальных лекарственных форм (ассортимент лекарственных пленок) / Н. В. Шестаков // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2017. - №. 2. - С. 96-101.
7. Opreș O. An overview of biopolymers for drug delivery applications / O. Opreș // Applied Sciences. - 2024. - Т. 14. - №. 4. - С. 1383.
8. Samanidis I. et al. A Comparative Phytochemical Investigation of the Greek Members of the Genus *Helichrysum* Mill., with Emphasis on the Local Endemic *Helichry-*

sum amorginum Boiss and Orph //Plants. - 2025. - T. 14. - №. 2. - C. 229.

9. Satchanska G. Natural and Synthetic Polymers for Biomedical and Environmental Applications / G. Satchanska, S. Davidova, P. D. Petrov //Polymers. - 2024. - T. 16. - №. 8. - C. 1159.

10. Shen J. Therapeutic effect of probiotic-fermented herbal blend as antibiotic alternative on salmonellosis by multi-drug resistant *Salmonella pullorum* / J. Shen //Food Bioscience. - 2024. - T. 57. - C. 103585.

11. Smejda-Krzewicka A., Mrozowski K., Strzelec K. Effect of Modified and Unmodified Oak Bark (*Quercus Cortex*) on the Cross-Linking Process and Mechanical, Anti-Aging, and Hydrophobic Properties of Biocomposites Produced from Natural Rubber (NR) / A. Smejda-Krzewicka, K. Mrozowski, K. Strzelec //Materials. - 2024. - T. 17. - №. 9. - C. 1968.

REFERENCES

1. Vdovina G. P. Effect of a new dosage form of bischofite on the rate of blood supply in the soft tissues of the periodontium in rats under conditions of experimental inflammation / G. P. Vdovina, L. M. Ganicheva, E. V. Merkulova // Perm Medical Journal. 2006. Vol. 23. No. 2. P. 56-59.

2. Galina A. R., Zidihanova L. F., Shurshina A. S., Kulish E. I. On the possibility of creating a polymer form of prolonged-action application anesthesia based on sodium carboxymethyl cellulose / A. R. Galina, L. F. Zidihanova, A. S. Shurshina, E. I. Kulish // Bulletin of the Bashkir. University. 2019. No. 2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/o-vozmozhnosti-sozdaniya-polimernoy-formy-applikatsionnoy-anestezii-prolongirovannogo-deystviya-na-osnove-natrievoy-soli>.

3. Kishchenko V. M. Films in Russian medicine and cosmetology: history of development, classification, technology / V. M. Kishchenko // Pharmacy and pharmacology. - 2020. - Vol. 8. - No. 2. - P. 124-132.

4. Petrukhina D. A. Research on the creation of an application system for the treatment of wound processes / D. A. Petrukhina, I. V. Pletneva, Yu. S. Pokrovskaya // Medical and pharmaceutical journal "Pulse". - 2021. - Vol. 23. - No. 2. - P. 74-79.

5. Savchenko L. N. Methodological approach to the selection of polymer matrices in dental medicinal films with methyluracil / L. N. Savchenko // Medical and pharmaceutical journal "Pulse". - 2008. - Vol. 10. - No. 4. - P. 710-712.

6. Shestakov N. V. Range and characteristics of transmucosal dosage forms (range of medicinal films) / N. V. Shestakov // Development and registration of drugs. - 2017. - No. 2. - P. 96-101.

7. Opreş O. An overview of biopolymers for drug delivery applications / O. Opreş // Applied Sciences. - 2024. - Vol. 14. - No. 4. - P. 1383.

8. Samanidis I. et al. A Comparative Phytochemical Investigation of the Greek Members of the Genus *Helichrysum* Mill., with Emphasis on the Local Endemic *Helichrysum amorginum* Boiss and Orph //Plants. - 2025. - T. 14. - No. 2. - P. 229.

9. Satchanska G. Natural and Synthetic Polymers for Biomedical and Environmental Applications / G. Satchanska, S. Davidova, P. D. Petrov //Polymers. - 2024. - T. 16. - No. 8. - P. 1159.

10. Shen J. Therapeutic effect of probiotic-fermented herbal blend as antibiotic alternative on salmonellosis by multi-drug resistant *Salmonella pullorum* / J. Shen //Food Bioscience. - 2024. - T. 57. - P. 103585.

11. Smejda-Krzewicka A., Mrozowski K., Strzelec K. Effect of Modified and Unmodified Oak Bark (*Quercus Cortex*) on the Cross-Linking Process and Mechanical, Anti-Aging, and Hydrophobic Properties of Biocomposites Produced from Natural Rubber (NR) / A. Smejda-Krzewicka, K. Mrozowski, K. Strzelec //Materials. - 2024. - T. 17. - No. 9. - S. 1968.

УДК: 616-056.3:615.454.015.4
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.148

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ГЕЛЯ С ОКТЕНИДИНОМ ДИГИДРОХЛОРИДОМ

Иванова К.* – асп. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0009-0004-9557-7079); **Лунегов А.М.** – канд. ветеринар. наук, доц., зав. каф. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0003-4480-9488)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*karinockaa98@gmail.com

Ключевые слова: октенидина дигидрохлорид, декспантенол, конъюнктивальная проба, накожные аппликации, доклинические исследования.

Key words: octenidine dihydrochloride, dexpanthenol, conjunctival test, skin applications, preclinical studies.

Поступила: 16.05.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

В современном животноводстве большую долю заболеваний различной этиологии занимает травматизм животных, который влечет за собой повреждения кожных покровов. Нами был разработан новый антисептический ранозаживляющий препарат, в состав которого входят октенидина дигидрохлорид, пантотеновая кислота и вспомогательные компоненты, которые потенцируют действие основных компонентов препарата. Исследование сенсibilизирующей активности включало в себя два исследования - метод накожных аппликаций и конъюнктивальную пробу. Проводилось согласно «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под ред. А.Н. Миронова (2012), ГОСТ 32375-2013 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсibilизации». Испытание по исследованию кожной сенсibilизации включало определение индукционной и провокационной экспозиции, и проводилось на морских свинках. Были сформированы 2 группы животных – исследуемая и контрольная. В исследуемой – 20 животных, в контрольной – 10. Вторая часть исследования сенсibilизирующей активности препарата – конъюнктивальная проба. Для исследования использовали морских свинок. Было сформировано 2 группы животных – исследуемая и контрольная, в каждой по 10 животных. При оценке кожной сенсibilизации получили следующие результаты: покраснения, местное повышение температуры кожи, зуд, утолщение кожной складки, шелушения кожи – отсутствовали. Системные изменения отсутствовали, поведение животных не изменялось на протяжении всего исследования. При исследовании конъюнктивальной пробы гель с октенидином дигидрохлоридом вызвал покраснение в области слезного протока, роговицы и склеры через 15 минут после введения препарата под верхнее веко. Через 24 и 48 часов покраснение отсутствовало. Зуд

отсутствовал в период каждого этапа наблюдения. В контрольной группе изменений не было. Системных изменений не было выявлено в обеих группах в период проведения всего исследования.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современном животноводстве большую долю заболеваний незаразной этиологии занимает травматизм животных, который влечет за собой повреждения кожных покровов [1,8,10,11,12,14]. Несмотря на то, что на ветеринарном фармацевтическом рынке представлено значительное количество антисептических препаратов, множество из них имеют свои определенные недостатки [2,4,9]. К недостатку можно отнести узкий спектр антимикробного действия, отсутствие или низкая ранозаживляющая способность, низкий местный противовоспалительный эффект [4,5,6,7,16].

Нами был разработан новый антисептический ранозаживляющий препарат, в состав которого входят октенидина дигидрохлорид, пантотеновая кислота и вспомогательные вещества, которые потенцируют действие основных компонентов препарата. При обработке научных данных, мы определили, что препарат на основе октенидина дигидрохлорида «Октенисепт», не вызывает раздражающего контактного дерматита. Лишь у 11 из 251 пациентов была реакция на «Октенисепт», однако возникла она на второй компонент препарата – феноксиэтанол [15]. Более того другие исследователи также отмечали, что сильное раздражающее действие в препарате «Октенисепт» вызывает феноксиэтанол, а не октенидина дигидрохлорид [17], поэтому при изобретении нового лекарственного препарата на основе октенидина дигидрохлорида важно оценить его сенсибилизирующую активность на этапе доклинических испытаний. Целью исследования являлось определение сенсибилизирующей активности нового лекарственного средства. Для достижения цели были определены задачи: проведение накожных аппликаций и конъюнктивальная проба.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование сенсибилизирующей активности включало в себя два исследования - метод накожных аппликаций и конъюнктивальную пробу. Проводилось согласно «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под ред. А.Н. Миронова (2012), ГОСТ 32375-2013 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсибилизации» [3,13].

Испытание по исследованию кожной сенсибилизации включало определение индукционной и провокационной экспозиции, и проводилось на морских свинках. Были сформированы 2 группы животных – исследуемая и контрольная. В исследуемой – 20 животных, в контрольной – 10. До проведения опыта, животные в течение 5 дней акклиматизировали в условиях вивария. Температура в виварии составляла 20-22°C, относительная влажность воздуха – 50-55%, искусственное освещение с чередованием света и темноты по 12 часов, ежедневно морские свинки получали корм для лабораторных кроликов и морских свинок ЛБК 120, воду в свободном доступе. За сутки до проведения опыта животным сбрасывали шерсть с правой боковой поверхности, кожу не повреждали. Проведение исследования начиналось с проверки индукционной экспозиции. В первый день опыта, исследуемой группе животных на выбритый участок тела закрепили при помощи гипоаллергенного лейкопластыря пропитанный исследуемым веществом ватный диск, размером 4 см². Герметичная повязка удерживалась на коже 6 часов. Далее повязка с препаратом закреплялась на 7 и 14 дни эксперимента, аналогично, как и в первый день [3].

Далее исследовалась провокационная экспозиция. Со второго бока удалялась шерсть без повреждения кожного покрова. Исследуемой группе животных на выбритый участок тела закрепили при

помощи гипоаллергенного лейкопластыря пропитанный исследуемым веществом ватный диск, размером 4 см². Герметичная повязка удерживалась на коже 6 часов. Через 30 и 54 часа велось наблюдение и регистрировались изменения кожного покрова. В контрольной группе эксперимент проводился аналогично, но вместо исследуемого препарата, ватный диск пропитывали физиологическим раствором [3].

Вторая часть исследования сенсибилизирующей активности препарата – конъюнктивальная проба. Для исследования использовали морских свинок. Было сформировано 2 группы животных – исследуемая и контрольная, в каждой по 10 животных. До проведения опыта, животные в течение 5 дней акклиматизировали в условиях вивария. Температура в виварии составляла 20-22°C, относительная влажность воздуха – 50-55%, искусственное освещение с чередованием света и темноты по 12 часов, ежедневно морские свинки получали корм для лабораторных кроликов и морских свинок ЛБК 120, воду в свободном доступе. Животным из исследуемой группы вводили 1 каплю исследуемого препарата под верхнее веко одного глаза. Контрольной группе – 1

каплю физиологического раствора. Реакцию учитывали через 15 мин, а также 24 и 48 часов. Оценивали покраснение слезного протока, роговицы, склеры, а также наличие зуда в области глаз [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

Оценка кожной сенсибилизации в исследуемой группе животных (n=20) проводилась после проведения индукционной экспозиции, а именно при проведении провокационной экспозиции. Наблюдения через 48 и 72 часа после контрольного нанесения препарата показали, что дерматологических изменений не наблюдается. Покраснения, местное повышение температуры кожи, зуд, утолщение кожной складки, шелушения кожи – отсутствовали. Системные изменения отсутствовали, поведение животных не изменялось на протяжении всего исследования. В контрольной группе (n=10) изменений также не наблюдалось.

Конъюнктивальная проба была проведена на двух группах – исследуемой и контрольной, каждая из которых включала по 10 животных. В ходе эксперимента реакцию учитывали через 15 мин, а также 24 и 48 часов. Результаты представлены в таблице №1.

Таблица 1– Конъюнктивальная проба

Показатель	Гель с ОКТ			Физиологический раствор		
	15 мин	24 часа	48 часов	15 мин	24 часа	48 часов
Слезный проток	Покраснение	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма
Роговица	Покраснение	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма
Склера	Покраснение	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма
Зуд	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует

Исходя из результатов исследования, мы видим, что гель с октенидином дигидрохлоридом вызывает покраснение в области слезного протока, роговицы и склеры через 15 минут после введения препарата под верхнее веко. Через 24 и 48 часов покраснение отсутствовало. Зуд отсутствовал в период каждого этапа

наблюдения. В контрольной группе изменений не было. Системных изменений не было выявлено в обеих группах в период проведения всего исследования.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе проведения исследования по определению сенсибилизирующей активности геля с октенидином дигидрохлори-

дом мы пришли к выводу, что лекарственное средство не обладает кожной сенсibilизацией при местном нанесении препарата. Также гель не вызывает аллергизирующего действия при конъюнктивной пробе. Системные изменения в организме животных препарат не вызывал. Цель и задачи исследования были достигнуты. Лекарственное средство может быть исследовано далее и при положительных результатах рекомендовано для использования в ветеринарной практике в качестве дерматологического препарата.

DETERMINATION OF SENSITIZING ACTIVITY OF GEL WITH OCTENIDINE DIHYDROCHLORIDE

Ivanova K.* – PhD student Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0009-0004-9557-7079); **Lunegov A.M.** – PhD. Veterinary Sciences, assoc. prof/, chief Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0003-4480-9488).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*karinockaa98@gmail.com

ABSTRACT

In modern animal husbandry, a large proportion of diseases of non-infectious etiology is occupied by animal injury, which leads to damage to the skin. We have developed a new antiseptic wound healing drug, which includes octenidine dihydrochloride, pantothenic acid and auxiliary components that potentiate the action of the main components of the drug. The study of sensitizing activity included two studies - the method of skin applications and a conjunctival test. It was conducted in accordance with the "Guidelines for conducting preclinical studies of medicines" edited by A.N. Mironov (2012), GOST 32375-2013 "Testing methods for the effects of chemical products on the human body. Skin sensitization assessment tests". The skin sensitization test included the determination of induction and provocative exposure, and was conducted on guinea pigs. Two groups of animals were

formed – the study group and the control group. There were 20 animals in the study group and 10 in the control group. The second part of the study of the sensitizing activity of the drug is a conjunctival test. Guinea pigs were used for the study. Two groups of animals were formed – the study group and the control group, each with 10 animals. When assessing skin sensitization, the following results were obtained: redness, local increase in skin temperature, itching, thickening of the skin fold, peeling of the skin – were absent. There were no systemic changes, and the behavior of the animals did not change throughout the study. When examining a conjunctival sample, a gel with octenidine dihydrochloride caused redness in the area of the tear duct, cornea and sclera 15 minutes after administration of the drug under the upper eyelid. After 24 and 48 hours, there was no redness. There was no itching during each observation stage. There were no changes in the control group. No systemic changes were detected in both groups during the entire study period.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Васильев, В. К. Общая хирургия: учебное пособие / В. К. Васильев, А. П. Попов, А. Д. Цыбикжапов. — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 272 с.
2. Гален: [Электронный ресурс]. URL: <https://galen.vetrif.ru/>. (Дата обращения: 01.11.2024)
3. ГОСТ 32375-2013. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсibilизации. Введ. 2014-08-01. – М.: Стандартинформ, 2019. – 15 с.
4. Дельцов, А. А. Анализ рынка ветеринарных лекарственных средств, зарегистрированных на территории Российской Федерации в 2024 году / А. А. Дельцов, К. О. Белова, В. М. Фокина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2025. – Т. 2, № 4. – С. 18-32.
5. Иванова, К. Компоненты ранозаживляющих лекарственных препаратов (обзор) / К. Иванова, А. М. Лунегов // SPbVetScience : сборник научных трудов.

- Том Выпуск 5. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 16-22.
6. Иванова, К. О. Анализ фармацевтических субстанций комбинированных ранозаживляющих антисептических препаратов для ветеринарного применения / К. О. Иванова // Ветеринарная медицина и практика: сборник научных статей. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2024. – С. 23-27.
7. Матвеев, В. А. Изучение антимикробной активности нового гелевого препарата на основе хлоргексидина / В. А. Матвеев, В. А. Барышев, О. С. Попова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: сборник научных трудов / Редакционная коллегия: Стекольников А. А. (отв. редактор), Сухинин А. А. (зам. отв. редактора), Карпенко Л. Ю. (зам. отв. редактора). Том 149. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2018. – С. 27-29.
8. Матвеев, В.М. Разработка нового антисептического средства на гелевой основе: дис.канд.вет. наук : 06.02.03 / В.М. Матвеев ; Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины. – Санкт-Петербург, 2020. – 145 с.
9. Николаев, Д. И. Анализ используемых антибактериальных мазей / Д. И. Николаев, В. О. Махновский, В. А. Барышев // SPbVetScience : сборник научных трудов. Том Выпуск 1. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 55-60.
10. Общая хирургия: учебное пособие / В. М. Тимербулатов, Р. М. Гарипов, В. М. Сибаяев [и др.]. — Уфа: БГМУ, 2020. — 202 с.
11. Общая хирургия: учебное пособие / П. В. Гарелик, О. И. Дубровщик, Г. Г. Мармыш [и др.]. — Гродно: ГрГМУ, 2022. — 551 с.
12. Плахотин, М.В. Открытые механические повреждения (раны)// Общая ветеринарная хирургия / М.В. Плахотин, А.Д. Белов, Б.А. Башкиров, В.А. Лукьяновский. М.: Агропромиздат, 1990. – 592 с
13. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая; под ред. А.Н. Миронов — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
14. Чеходариди, Ф.Н. Комплексная терапия ран у собак / Ф.Н. Чеходариди, Н.С. Персаева, А.Г. Карлов // «Известия» Горского государственного аграрного университета. – 2015. -. Т.52. – Ч.3. – С. 109-112.
15. Calow, T., Oberle, K., Bruckner-Tuderman, L., et al. Contact dermatitis due to use of Octenisept in wound care // Journal of the German Society of Dermatology, 2009, Vol. 7(9), P. 759–765.
16. Hillier A., Lloyd D.H., Weese J.S., et al. Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases) // Veterinary Dermatology, 2014, Vol. 25, P. 163-243.
17. Szostak, K., Czogalla, A., Przybyło, M., et al. new lipid formulation of octenidine dihydrochloride // Journal of liposome research, 2018, Vol. 28(2), P. 106–111.

REFERENCES

1. Vasiliev, V. K. General surgery: a textbook / V. K. Vasiliev, A. P. Popov, A.D. Tsybikzhapov. — St. Petersburg: Lan, 2022. — 272 p. (In Russ.)
2. Galen: [Electronic resource]. URL: <https://galen.vetrif.ru/>. (Date of access: 11/01/2024) (In Russ.)
3. GOST 32375-2013. Testing methods for the effects of chemical products on the human body. Skin sensitization assessment tests. Introduction. 2014-08-01. Moscow: Standartinform, 2019. – 15 p. (In Russ.)
4. Deltsov, A. A. Analysis of the market of veterinary medicines registered in the Russian Federation in 2024 / A. A. Deltsov, K. O. Belova, V. M. Fokina // Veterinary, animal science, and biotechnology. – 2025. – Vol. 2, No. 4. – pp. 18-32. (In Russ.)
5. Ivanova, K. Components of wound-healing drugs (review) / K. Ivanova, A.M.

- Lunegov // SPbVetScience : collection of scientific papers. Volume Issue 5. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023, pp. 16-22. (In Russ.)
6. Ivanova, K. O. Analysis of pharmaceutical substances of combined wound-healing antiseptic drugs for veterinary use / K. O. Ivanova // Veterinary medicine and practice: a collection of scientific articles. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2024, pp. 23-27. (In Russ.)
7. Matveev, V. A. Study of antimicrobial activity of a new gel preparation based on chlorhexidine / V. A. Matveev, V. A. Baryshev, O. S. Popova // Actual problems of veterinary medicine: a collection of scientific papers / Editorial board: Stekolnikov A. A. (editor-in-chief), Sukhinin A. A. (deputy editor-in-chief), Karpenko L. Yu. (Deputy editor-in-chief). Volume 149. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2018. – pp. 27-29. (In Russ.)
8. Matveev, V.M. Development of a new gel -based antiseptic: PhD Candidate of Veterinary Sciences: 02/06/03 / V.M. Matveev ; St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. – St. Petersburg, 2020. 145 p. (In Russ.)
9. Nikolaev, D. I. Analysis of used antibacterial ointments / D. I. Nikolaev, V. O. Makhnovsky, V. A. Baryshev // SPbVetScience : collection of scientific papers. Volume Issue 1. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. pp. 55-60. (In Russ.)
10. General surgery: a textbook / V. M. Timbulatov, R. M. Garipov, V. M. Sibaev [et al.]. Ufa: BSMU, 2020. 202 p. (In Russ.)
11. General surgery: a textbook / P. V. Garelik, O. I. Dubrovshchik, G. G. Marmysh [et al.]. Grodno: GrSMU, 2022. 551 p. (In Russ.)
12. Plakhotin, M.V. Open mechanical damage (wounds) // General veterinary surgery / M.V. Plakhotin, A.D. Belov, B.A. Bashkirov, V.A. Lukyanovsky. Moscow: Agropromizdat, 1990. – 592 p. (In Russ.)
13. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part One; edited by A.N. Mironov— Moscow: Grif and K, 2012— 944 p. (In Russ.)
14. Chekhodaridi, F.N. Complex wound therapy in dogs / F.N. Chekhodaridi, N.S. Persaeva, A.G. Karlov // Izvestia of the Gorsky State Agrarian University. – 2015. -. Vol.52. – Part 3. – pp. 109-112. (In Russ.)
15. Calow, T., Oberle, K., Bruckner-Tuderman, L., et al. Contact dermatitis due to use of Octenisept in wound care // Journal of the German Society of Dermatology, 2009, Vol. 7(9), P. 759–765. (In Eng.)
16. Hillier A., Lloyd D.H., Weese J.S., et al. Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases) // Veterinary Dermatology, 2014, Vol. 25, P. 163-243. (In Eng.)
17. Szostak, K., Czogalla, A., Przybyło, M., et al. new lipid formulation of octenidine dihydrochloride // Journal of liposome research, 2018, Vol. 28(2), P. 106–111. (In Eng.)



УДК: 577.112.3:637.5'64.06

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.2.154

ДИНАМИКА АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА СВИНИНЫ С ДЕФЕКТАМИ КАЧЕСТВА ПРИ ХРАНЕНИИ

Калужная Т.В.* - канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-8682-1840).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*tomagafk087@mail.ru

Ключевые слова: свинина, категория качества мяса, аминокислотный состав, свинина PSE и DFD, свинина RSE, свинина RFN, свинина PFN, пороки и дефекты качества мяса.

Keywords: pork, meat quality category, amino acid composition, pork PSE and DFD, pork PSE, pork RFN, pork PDF, vices and defects of meat quality.

Поступила: 10.02.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Мясо служит ключевым источником полноценного белка, чья питательная и биологическая ценность определяется содержанием незаменимых и заменимых аминокислот. На это влияют многочисленные факторы, в том числе условия хранения. Одним из методов увеличения сроков годности является низкотемпературное консервирование — охлаждение и заморозка при определённых температурно-влажностных параметрах, что способствует сохранению структуры тканей и частичному замедлению автолиза, но приводит к трансформации показателей безопасности, питательной ценности и аминокислотного профиля. Целью исследования стал анализ динамики аминокислотного состава свинины разных категорий качества в зависимости от температурно-влажностных условий хранения. Исследования проводили поэтапно на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». В качестве объектов выступили 102 образца свинины (по 17 проб с дефектами PSE, DFD, RSE, RFN, PFN и без дефектов). Проведенный анализ динамики содержания незаменимых и заменимых аминокислот в свинине с различными дефектами в ходе хранения выявил зависимость их количества от вида дефекта и продолжительности хранения. Наиболее значительные колебания в содержании незаменимых аминокислот установлены на 5-е, 6-е, 8-е, 10-е и 12-е сутки хранения, а для заменимых аминокислот — на 3-и, 7-е и 11-е. Полученные результаты, отражающие закономерности изменения аминокислотного профиля свинины с качественными дефектами в условиях температуры -1°C и относительной влажности 85%, имеют ключевое значение для оптимизации технологических процессов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Мясо служит ключевым источником полноценного белка, чья питательная и биологическая ценность определяется балансом незаменимых и заменимых аминокислот [1; 2]. На эти характеристики влияют многочисленные факторы: вид и порода животных, их пол и возраст, рацион питания, методы хранения и упаковки [3; 4].

В контексте реализации Доктрины продовольственной безопасности РФ (утвержденной Указом Президента № 20 от 21.01.2020) особое внимание уделяется совершенствованию качества и эффективному использованию мясной продукции, включая оптимизацию хранения. Одним из методов увеличения сроков годности является низкотемпературное консервирование — охлаждение и заморозка при определённых температурно-влажностных параметрах. Хотя такие технологии сохраняют структуру тканей и замедляют автолиз, но не полностью останавливают биохимические изменения, что приводит к трансформации показателей безопасности, питательной ценности и аминокислотного профиля продукта [5; 6; 7].

Анализируя научные данные по изучению аминокислотного состава мяса, установили, что в большинстве работ описана динамика лишь части аминокислот, например, отсутствуют данные по тирозину. Кроме того, для идентификации аминокислот преимущественно применяются жидкостная хроматография или автоматические анализаторы, тогда как использование метода капиллярного электрофореза практически не изучено. Отдельный дефицит информации наблюдается в изучении мяса с дефектами PSE (бледное, мягкое, водянистое) и DFD (тёмное, плотное, сухое), особенно в контексте влияния условий хранения на их аминокислотный состав [8; 9; 10].

Таким образом, оценка изменений аминокислотного профиля мяса с дефектами при различных режимах хранения представляет значительный научно-практический интерес.

Целью исследования стал анализ динамики аминокислотного состава свинины разных категорий качества в зависимости от температурно-влажностных условий хранения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Экспериментальная работа осуществлялась в 2023–2024 гг. на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». В качестве объектов исследования выступили 102 образца свинины, разделённые на группы по качественным характеристикам: по 17 проб с дефектами PSE, DFD, RSE, RFN, PFN и без дефектов. Точечные пробы отбирали из различных мышечных групп, после чего формировали объединённые образцы для дальнейшего анализа.

Работа включала два этапа. Первый этап предполагал оценку аминокислотного профиля мяса через 24 часа после убоя и завершения процесса созревания. Эти данные в дальнейших исследованиях принимали за контроль. На втором этапе образцы помещали в условия хранения при температуре -1°C и относительной влажности 85%. Мониторинг показателей осуществляли ежедневно в течение периода, соответствующего нормативным требованиям к сроку годности свинины.

Для определения аминокислот применяли методику М-04-94-2021 с использованием капиллярного электрофореза на приборе «Капель-105М» (ГК «ЛЮМЭК»), оснащённом автосемплером и системой автоматического переключения полярности. Использовалась кварцевая кассета с капилляром длиной 75 см и внутренним диаметром 50 мкм. Температура термостата поддерживалась на уровне 30°C . Детектирование проводили при длине волны 254 нм (основные аминокислоты) и 219 нм (триптофан), с напряжением 25 кВ. В качестве электролитов применяли фосфатный буфер с β -циклодекстрином (для большинства аминокислот) и раствор тетрабората натрия

(для триптофана).

Интерпретацию электрофореграмм выполняли с помощью программного обеспечения «Эльфوران®» версии 3.2.5 (ГК «ЛЮМЭКС»), что позволило автоматизировать расчёт концентраций аминокислот и минимизировать погрешности измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведенный анализ изменений содержания незаменимых и заменимых аминокислот в свинине с различными дефектами в ходе хранения выявил зависимость их количества от вида дефекта и продолжительности хранения.

Исследование показало, что содержание незаменимых аминокислот изменялось постепенно, коррелируя со сроком хранения. Например, на 5-й и 8-й дни во всех образцах, независимо от дефекта, наблюдался рост валина и метионина при одновременном снижении триптофана по сравнению с контролем. Однако степень изменений варьировалась в зависимости от типа дефекта. Так, в свинине без дефектов к 5-му дню валин увеличился на 0,13%, а метионин — на 0,09%. В свинине с дефектом RFN количество валина увеличилось на 0,08%, а метионина — 0,1%. Аналогичное увеличение в свинине с дефектом PSE составляло для валина — 0,06% и метионина — 0,07%. Характеризуя такие изменения в свинине DFD определили, что количество валина и метионина увеличилось на 0,07%. В свинине с дефектами RSE и PFN содержание валина увеличивалось на 0,11%, а метионина — 0,12% и 0,1% соответственно. При этом снижение триптофана варьировало от 0,14% в свинине без дефектов до 0,08% в свинине с пороками RSE и PFN.

К 6-му дню хранения установлено увеличение количественного содержания не только валина и метионина, но и треонина. Например, в образцах свинины без дефектов валин вырос на 0,16%, метионин — на 0,15%, треонин — на 0,07%. Для свинины с дефектом RFN показатели составили 0,12%, 0,13% и 0,09%, а для свинины с дефектом PSE — 0,11%, 0,17% и 0,08% соответственно (рисунок 1).

На 8-й день тенденция увеличения валина, метионина и треонина сохранялась, но отмечено снижение содержания триптофана. Так, максимальный прирост валина отмечен в образцах свинины без дефектов - 0,17%, а метионина — в свинине с дефектом PSE 0,18%. Содержание триптофана в свинине без пороков уменьшилось на 0,16%, в свинине RFN на 0,13%, в свинине PSE — на 0,12%, в свинине DFD — на 0,11%, в свинине RSE и PFN — на 0,1%.

К 10-му дню увеличивалось содержание валина и метионина, но снижалось фенилаланина. Например, в свинине без дефектов содержание фенилаланина уменьшилось на 0,09%, в свинине RFN и PSE на 0,06%, в свинине DFD — на 0,11%, в свинине RSE и PFN — на 0,08% (рисунок 2).

На 12-е сутки установлено увеличение валина, метионина, фенилаланина и снижение лизина. Так, количество валина в свинине без пороков увеличилось на 0,21%, в свинине RFN и PSE на 0,19%, в свинине DFD — на 0,2%, в свинине RSE и PFN — на 0,16%. Количество метионина в свинине без пороков возросло на 0,19%, в свинине RFN и DFD на 0,21%, свинине PSE — на 0,23 %, свинину RSE и PFN — на 0,22%. Количество фенилаланина в свинине без пороков возросло на 0,17%, в свинине RFN и DFD на 0,16%, в свинине PSE — на 0,15 %, в свинине RSE и PFN — на 0,19%. Содержание лизина в свинине без пороков уменьшилось на 0,16%, в свинине RFN и PSE на 0,13%, в свинине DFD — на 0,15%, в свинине RSE и PFN — на 0,14% (рисунок 3).

Содержание заменимых аминокислот в свинине также зависело от вида дефекта и срока хранения. На 3-й, 7-й и 11-й дни хранения наблюдался рост аргинина и глицина. Кроме того, снижение гидроксипролина установлено на 3 и 11 сутки, аспарагиновой кислоты и аспарагина на 3-й день, пролина на 7-й день, а цистина и гидроксипролина на 11-й день. При этом на 7 сутки увеличивалось еще и содержание суммы глутаминовой кислоты и глутамина. Так, на 3-й день количество арги-

нина в образцах свинины без дефектов выросло на 0,07%, а глицина — на 0,1%. В свинине с пороком RFN содержание этих аминокислот увеличивалось на 0,05 и 0,09% соответственно. В свинине с пороком PSE аналогичный показатель составлял 0,06 и 0,08% соответственно. Количество аргинина в свинине DFD увеличилось на 0,11%, в свинине RSE и PFN — на 0,1%. Содержание глицина при этом в пробах свинины с этими пороками увеличивалось на 0,07%, 0,09% и 0,06% соответственно. Содержание гидрооксипролина в свинине без пороков уменьшилось на 0,11%, в свинине RFN и PSE на 0,09%, в свинине DFD — на 0,08%, в свинине RSE и PFN — на 0,12%. Для суммы аспарагиновой кислоты и аспарагина эти показатели составляли в свинине без пороков 0,14%, в свинине RFN — 0,15%, в свинине PSE и DFD — 0,13%, в свинине RSE и PFN — 0,07% (рисунок 4).

На 7 сутки хранения максимальное увеличение содержания аргинина установлено в свинине RSE и PFN — на 0,17%, а минимально в свинине без пороков — на 0,13%. Количество глицина в свинине без пороков возросло на 0,14%, в свинине RFN и DFD на 0,15%, в свинине PSE — на 0,19 %, в свинине RSE и PFN — на 0,13%.

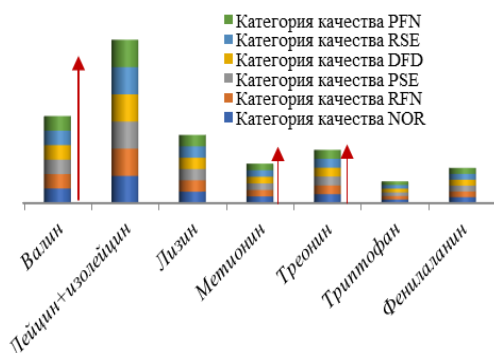


Рисунок 1 – Динамика незаменимых аминокислот в пробах свинины разных категорий качества, % на 6 сутки.

Содержание суммы глутаминовой кислоты и глутамина в свинине без пороков увеличилось на 0,11%, в свинине RFN на 0,09%, свинине PSE — на 0,13%, свинине DFD — на 0,12%, свинине RSE и PFN — на 0,1% (рисунок 5).

На 11 сутки хранения содержание аргинина в свинине без пороков и с дефектом PSE увеличилось на 0,13%, в свинине RFN на 0,12%, в свинине DFD — на 0,14%, в свинине RSE и PFN — на 0,19%. Наибольшее увеличение количества глицина установлено в свинине с дефектом PSE — на 0,21 %, а наименьшее — в свинине без пороков — на 0,15%. Количество цистина и гидрооксипролина уменьшалось в свинине без пороков на 0,15% и 0,14% соответственно. Эти же показатели для свинины RFN составили 0,18% и 0,2%, для свинины PSE — на 0,16% и 0,19%, для свинины DFD — на 0,15% и 0,19%, для свинины RSE и PFN — на 0,17 и 0,13 % соответственно (рисунок 6).

Таким образом, исследование подтвердило, что аминокислотный профиль свинины определяется как временным фактором, так и спецификой дефектов, что важно для оптимизации условий хранения.

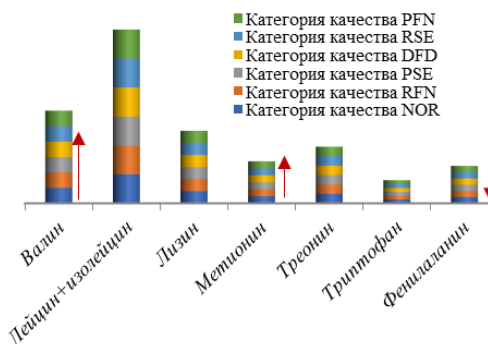


Рисунок 2 – Динамика незаменимых аминокислот в пробах свинины разных категорий качества, % на 10 сутки.

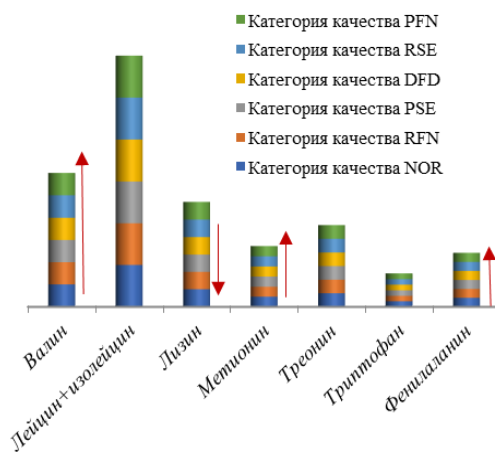


Рисунок 3 – Динамика незаменимых аминокислот в пробах свинины разных категорий качества, % на 12 сутки.

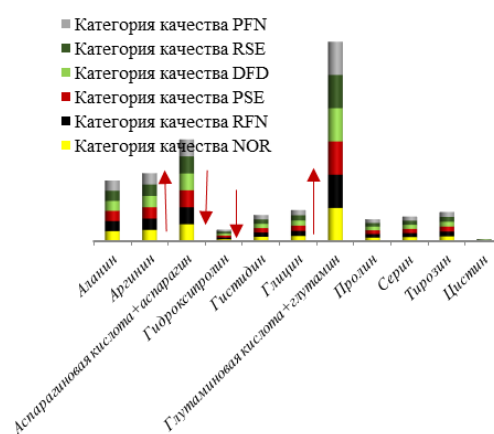


Рисунок 4 – Динамика заменимых аминокислот в пробах свинины разных категорий качества, % на 3 сутки.

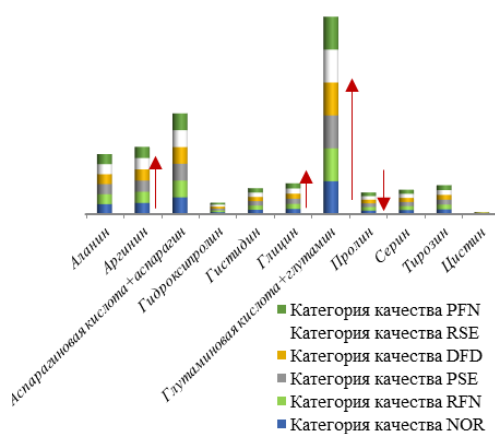


Рисунок 5 – Динамика заменимых аминокислот в пробах свинины разных категорий качества, % на 7 сутки.



Рисунок 6 – Динамика заменимых аминокислот в пробах свинины разных категорий качества, % на 11 сутки.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате исследований была выявлена взаимосвязь между количественным содержанием аминокислот, видом дефекта свинины и сроком его хранения. Анализ данных показал, что наиболее значительные колебания в содержании незаменимых аминокислот фиксировались на 5-е, 6-е, 8-е, 10-е и 12-е сутки, тогда как для заменимых аминокислот пиковые измене-

ния приходились на 3-й, 7-й и 11-й дни хранения.

Полученные результаты, отражающие закономерности изменения аминокислотного профиля свинины с качественными дефектами в условиях температуры -1°C и относительной влажности 85%, имеют ключевое значение для оптимизации технологических процессов. Эти данные необходимо интегрировать в стандарты

производства и логистики мясной продукции, чтобы минимизировать потери питательной ценности и обеспечить соблюдение нормативов качества на всех этапах хранения.

Таким образом, мониторинг динамики аминокислотного состава следует рассматривать как обязательный элемент системы управления качеством в мясоперерабатывающей отрасли.

DYNAMICS OF AMINO ACID COMPOSITION OF PORK WITH QUALITY DEFECTS DURING STORAGE

Kalyuzhnaya T.V.* – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0002-8682-1840).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*tomagafk087@mail.ru

ABSTRACT

Meat is a key source of complete protein, whose nutritional and biological value is determined by the content of essential and non-essential amino acids. This is influenced by numerous factors, including storage conditions. One of the methods of increasing shelf life is low—temperature canning - cooling and freezing at certain temperature and humidity parameters, which helps preserve the structure of tissues and partially slow down autolysis, but leads to a transformation of safety indicators, nutritional value and amino acid profile. The aim of the study was to analyze the dynamics of the amino acid composition of pork of different quality categories depending on the temperature and humidity conditions of storage. The research was conducted in stages on the basis of the Educational and Research Center for Food and Animal Feed Expertise of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. 102 pork samples were used as objects (17 samples each with defects of PSE, DFD, RSE, RFN, PFN and without defects). The analysis of the dynamics of the content of essential and non-essential amino acids in

pork with various defects during storage revealed the dependence of their quantity on the type of defect and the duration of storage. The most significant fluctuations in the content of essential amino acids were established on the 5th, 6th, 8th, 10th and 12th days of storage, and for non-essential amino acids - on the 3rd, 7th and 11th. The results obtained, reflecting the patterns of changes in the amino acid profile of pork with qualitative defects at a temperature of -1°C and a relative humidity of 85%, are of key importance for optimizing technological processes.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Овсянников, А. Г. Анализ мониторинга качества и безопасности мяса и мясопродуктов в рамках государственных закупок / А. Г. Овсянников, Д. А. Орлова, Т. В. Калюжная // *Международный вестник ветеринарии*. – 2021. – № 2. – С. 83-87. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46322817>
2. Василевич, Ф. И. Влияние витаминно-микроэлементного комплекса на биологическую полноценность мяса / Ф. И. Василевич, В. М. Бачинская, Ю. В. Петрова // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2022. – № 7. – С. 28-35. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49239624>
3. Изменение аминокислотного состава говядины при концентратном откорме крупного рогатого скота / В. Д. Кабанов, П. И. Тищенко, Ю. И. Тимошенко [и др.] // *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. – 2019. – № 3. – С. 63-37. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38319801>
4. Калюжная, Т. В. Зависимость пищевой ценности мяса от категории качества / Т. В. Калюжная, Д. А. Орлова, Л. Ю. Карпенко // *Международный вестник ветеринарии*. – 2023. – № 2. – С. 156-160. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54145549>
5. Калюжная, Т. В. К вопросу об аминокислотном составе свинины с дефектами качества / Т. В. Калюжная, Д. А. Орлова // *Нормативно-правовое регулирование в*

ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 149-153. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54116415>

6. Донецких, А. Г. Изучение биологической ценности мяса, полученного от бычков черно-пестрой породы / А. Г. Донецких // Международная научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 180-летию со дня рождения К.А. Тимирязева: Сборник статей, Москва, 05–07 июня 2023 года. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2023. – С. 402-407. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=62498449>

7. Ревуцкая, Н. М. Анализ пищевой и биологической ценности мяса некастрированных и кастрированных свиней / Н. М. Ревуцкая, В. В. Насонова, Т. Г. Кузнецова // Все о мясе. – 2020. – № 5S. – С. 297-299. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44283055>

8. Емельянов, А. М. Исследования аминокислотного состава мышечной ткани свинины / А. М. Емельянов, Г. В. Емельянова // Совершенствование технологий производства, переработки и экспертизы качества пищевой продукции : материалы всероссийской (национальной) научно-практической конференции, пос. Персиановский, 20 декабря 2019 года. – пос. Персиановский: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Донской государственный аграрный университет", 2019. – С. 122-124. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42597800>

9. Аминокислотный состав мышечной ткани различных отрубов туш свиней / А. Л. Алексеев, В. А. Бараников, О. Р. Барило, С. Р. Баскакова // Селекция сельскохозяйственных животных и технология производства продукции животноводства : материалы международной научно-практической конференции, пос. Персиановский, 05 февраля 2015 года. – пос. Персиановский: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального

образования "Донской государственный аграрный университет", 2015. – С. 3-6. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23729623>

10. Зачесова, И. А. Сравнительная оценка потребительских свойств оленины и традиционного мясного сырья / И. А. Зачесова, С. В. Колобов // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. – 2018. – № 1. – С. 82-85. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36498785>

REFERENCES

1. Ovsyannikov, A.G. et al. Analysis of monitoring the quality and safety of meat and meat products in the framework of state procurement / A.G. Ovsyannikov, D.A. Orlova, T.V. Kalyuzhnaya // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2021; (2):83-87. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46322817> (In Russ.)

2. Vasilevich, F.I. et al. Effect of a vitamin-microelement complex on the biological completeness of meat / F.I. Vasilevich, V.M. Bachinskaya, Y.V. Petrova // Veterinary Medicine, Animal Science and Biotechnology. 2022;(7):28-35. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49239624> (In Russ.)

3. Kabakov, V.D., et al. Changes in the amino acid composition of beef during concentrate fattening of cattle / V.D. Kabakov, P.I. Tishenkov, Y.I. Timoshenko, et al // Bulletin of Russian Agricultural Science. 2019;(3):63-37. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38319801> (In Russ.)

4. Kalyuzhnaya, T.V. et al. Dependence of the nutritional value of meat on quality category / T.V. Kalyuzhnaya, D.A. Orlova, L.Y. Karpenko // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023;(2):156-160. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54145549> (In Russ.)

5. Kalyuzhnaya, T.V., Orlova D.A. On the amino acid composition of pork with quality defects/ T.V. Kalyuzhnaya, D.A. Orlova // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023;(2):149-153. URL: <https://>

www.elibrary.ru/item.asp?id=54116415 (In Russ.)

6. Donetskikh AG. Study of the biological value of meat from Black Pied bulls / International Scientific Conference of Young Scientists and Specialists Dedicated to the 180th Anniversary of K.A. Timiryazev. 2023 Jun 5-7; Moscow, Russia. Moscow: Russian State Agrarian University - MTAA; 2023. p. 402-407. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=62498449> (In Russ.)

7. Revutskaya NM et al., Analysis of the nutritional and biological value of meat from non-castrated and castrated pigs / N.M. Revutskaya, V.V. Nasonova, T.G. Kuznetsova // All About Meat. 2020;5S:297-299. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44283055> (In Russ.)

8. Emelyanov A M., Emelyanova G. V. Studies of the amino acid composition of pork muscle tissue / A M. Emelyanov, G. V. Emelyanova // Improvement of Production, Processing, and Quality Examination Tech-

nologies for Food Products. 2019 Dec 20; Persianovksy, Russia. Persianovksy: Don State Agrarian University; 2019. p. 122-124. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42597800> (In Russ.)

9. Alekseev A.L. et al., Amino acid composition of muscle tissue in different pork cuts / A.L. Alekseev, V.A. Baranikov, O.R. Barilo, S.R. Baskakova // Breeding of Farm Animals and Technology of Livestock Production; 2015 Feb 5; Persianovksy, Russia. Persianovksy: Don State Agrarian University; 2015. p. 3-6. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23729623> (In Russ.)

10. Zachesova I.A., Kolobov S.V. Comparative assessment of consumer properties of venison and traditional meat raw materials / I.A. Zachesova, S.V. Kolobov // International Scientific and Practical Conference Dedicated to the Memory of Vasily Matveevich Gorbатов. 2018;(1):82-85. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36498785> (In Russ.).

УДК: 636.22 /. 28. 034

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.162

МОЛОЧНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ И ЧЁРНО-ПЁСТРОЙ ПОРОД ПРИ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ

Ковалева Г.П.* – канд. с.-х. наук, вед. науч. сотр., доц. (ORCID 0000-0002-6655-2225); **Лапина М.Н.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-7651-8450); **Сулыга Н.В.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-9724-6271); **Витол В.А.** – канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-5254-5200).

ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр»

*skotovodstvo-sniizhk.@yandex.ru

Ключевые слова: тепловой стресс, температурно-влажностный индекс, голштинская порода, чёрно-пёстрая порода, лактация, удой.

Key words: heat stress, temperature and humidity index, Holstein breed, black and motley breed, lactation, milk yield.

Поступила: 28.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

В связи с повсеместным потеплением климата и увеличением продолжительности жаркого, сухого периода тепловой стресс становится актуальной проблемой молочного скотоводства. Высокопродуктивные животные наиболее чувствительны к температурному стрессу, в период которого их суточные удои могут значительно снижаться. Цель исследований заключалась в изучении динамики удоев коров молочных пород за четыре первых месяца лактации в летний период. Исследования выполнены в двух хозяйствах, расположенных в зоне недостаточного увлажнения Ставропольского края. Первое хозяйство занимается разведением скота голштинской породы, второе – чёрно-пёстрой породы. В каждом хозяйстве были сформированы по 3 опытные группы животных, по 10 голов в каждой, со среднесуточным удоем в первый месяц лактации: I опытная группа – до 20 кг; II опытная группа – 20-30 кг; III опытная группа – более 30 кг молока. Величину температурного стресса устанавливали на основании ежедневных данных температуры и влажности воздуха. В мае абсолютное большинство дней соответствовало оптимальным значениям температуры и влажности воздуха для содержания крупного рогатого скота молочного направления продуктивности в обоих хозяйствах. В июне-августе преобладали дни с минимальным и средним тепловым стрессом. Удой животных I опытной группы достоверно увеличивался по месяцам лактации. Величина удоя первого и четвёртого месяцев лактации животных II и III опытных групп достоверно не различалась. Таким образом, у средне- и высокопродуктивных животных голштинской и чёрно-пёстрой пород, при минимальных и средних значениях теплового стресса, не происходит достоверного изменения удоя по месяцам лактации.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Температура – один из наиболее важных паратипических факторов, изменения которой могут повлечь за собой серьёзные нарушения в адаптационных механизмах животных [1]. Самая комфортная температура окружающей среды для крупного рогатого скота находится в диапазоне от 0 до +20°C [1, 2]. При достижении верхнего критического уровня температуры можно говорить о тепловом стрессе. Тепловой стресс обуславливается не только температурой окружающей среды, на возникновение теплового стресса у коров также оказывает влияние относительная влажность воздуха – от неё зависит восприятие животными температуры воздуха. Тепловой стресс у дойных коров влечёт за собой уменьшение потребления корма, замедление процессов ферментации в рубце, существенное снижение надоев и экономическим потерям [1, 3, 4]. Также при развитии теплового стресса у коров происходит снижение содержания жира и белка в молоке, увеличивается количество соматических клеток [5, 6]. Наиболее чувствительны к температурному стрессу высокопродуктивные коровы, у которых при температуре +35°C суточная потеря продуктивности составляет до 33 %, при температуре +40°C – до 50 %.

Тепловой стресс определяется на основании температурно-влажностного индекса согласно классификации по степени его тяжести. За оптимальное значение принимается величина ТВИ менее 66 [7].

Особое значение тепловой стресс молочных коров имеет в регионах РФ с продолжительным жарким периодом – Южный и Северо-Кавказский федеральные округа. В Ставропольском крае в летние месяцы температура в тени достигает +30 - +36°C, при этом температурно-влажностный индекс, в зависимости от влажности воздуха, составляет 80-91, что соответствует сильному и очень сильному тепловому стрессу [5, 6]. Большая часть территории Ставропольского края относится к следующим природно-климатическим зонам: недостаточного

увлажнения, засушливая и крайне засушливая. В связи с повсеместным потеплением климата и увеличением продолжительности жаркого, сухого периода, а также ростом молочной продуктивности животных актуальным является изучение влияния теплового стресса на продуктивные качества коров молочных пород в зоне недостаточного увлажнения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили в период с мая по август 2024 года на коровах голштинской породы СПК колхоз-племзавод «Казьминский» и коровах чёрно-пёстрой породы ООО «Колхоз-племзавод им. Чапаева». Эти хозяйства расположены в зоне недостаточного увлажнения Ставропольского края. Технология содержания дойного поголовья в обоих хозяйствах одинаковая – привязная, в типовых четырехрядных коровниках, доение в стойлах в молокопровод. В помещениях животные находятся в период между вечерним и утренним доением. В опытные группы отобрали животных, отёл которых прошел в период с 15 по 25 апреля и пик их лактации совпал с летним периодом года. В каждом хозяйстве сформировали по 3 опытные группы животных, по 10 голов в каждой, со среднесуточным удоем в первый месяц лактации: I опытная группа – до 20 кг; II опытная группа – 20-30 кг; III опытная группа – более 30 кг молока.

Температурно-влажностный индекс (ТВИ) определяли ежедневно согласно шкале оценки температурного стресса, разработанного Z.R. Burgosi R.J. Collier [7] на основании ежедневных данных гидрометцентра (температура и влажность воздуха) в сёлах Казьминское и Ивановское, на территории которых расположены молочно-товарные фермы, где содержались опытные животные.

Полученный цифровой материал обработан биометрическим методом с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Согласно технологии содержания

дойного поголовья в обоих хозяйствах, коровы после утреннего доения, с шести часов утра до одиннадцати часов дня и в период между обеденным и вечерним доением, с тринадцати до семнадцати часов дня, находятся на выгульных площадках без укрытий. Этот временной промежуток в летний период соответствует наибольшим показаниям температуры и наименьшим показаниям влажности воздуха, то есть животные находятся под воздействием неблагоприятных паратипических факторов.

В соответствии с этим, на основании данных дневной температуры и влажности воздуха был определен ежесуточный

температурно-влажностный индекс (ТВИ) и уровень теплового стресса у лактирующих коров (таблица 1). В мае, в первый месяц лактации опытных животных, абсолютное большинство дней соответствовало оптимальным значениям температуры и влажности воздуха для содержания крупного рогатого скота молочного направления продуктивности в обоих хозяйствах. В июне превалировали дни с температурой и влажностью воздуха соответствующие уровню минимального температурного стресса. В течение всего июля и большинства дней августа животные также находились в условиях минимального и среднего теплового стресса.

Таблица 1 – Количество дней с тепловым стрессом по месяцам опыта

Месяцы	Количество дней			
	Оптимальные условия (ТВИ <67)	Порог теплового стресса (ТВИ 68-71)	Минимальный тепловой стресс (ТВИ 72-79)	Средний тепловой стресс (ТВИ 80-82)
ООО «Колхоз-племзавод имени Чапаева»				
Май	22	7	2	-
Июнь	3	6	21	-
Июль	-	-	27	4
Август	1	2	25	3
Итого	26	15	78	7
СПК колхоз-племзавод «Казьминский»				
Май	20	8	3	-
Июнь	3	6	21	-
Июль	-	-	27	4
Август	1	2	25	3
Итого	24	16	76	7

По данным таблицы 2, I опытной группы, несмотря на испытываемый в период с июня по август тепловой стресс демонстрировали устойчивый, высокодоверенный рост удоев. В среднем по этой опытной группе месячный удой с мая по август возрос на 273,6 кг молока. Такой рост удоев у коров молочных пород от первого до четвёртого месяца лактации является закономерным и физиологически обусловленным. В II опытной группе месячный удой с мая по август возрос на недоверенную величину – 73,2 кг молока. В III опытной группе, где были представлены высокопродуктивные животные

со среднесуточным удоем на начало опыта более 30 кг молока, удой с мая по август снизился на 47,6 кг, но эта разница также не была достоверной.

Таким образом, низкопродуктивные животные менее подвержены влиянию теплового стресса на уровень удоев и достоверно их увеличивают по месяцам лактации. У животных с удоем в пределах 20-30 кг в первый месяц лактации, рост удоев от первого до четвёртого месяца лактации был незначительным и недоверенным. Высокопродуктивные животные, наоборот, демонстрируют незначительное и недоверенное снижение удоев в пери-

од теплового стресса. Необходимо отметить, что установленная зависимость величины удоев от значений ТВИ отражает средние показатели по опытным группам. Однако в каждой опытной группе часть животных увеличивала удои по месяцам лактации, у других удои были на одном

уровне или же снижались, и эта тенденция не зависела от уровня их продуктивности. Видимо, реакция на температурный стресс у коров молочного направления продуктивности индивидуальна и взаимосвязана с их термоустойчивостью.

Таблица 2 – Удой животных при температурном стрессе

	Удой по месяцам, кг			
	май	июнь	июль	август
I опытная группа (n=20)				
СПК колхоз-племзавод «Казьминский»				
M±m	523,6±22,4	657,1±40,4*	664,7±32,1**	691,2±40,2**
ООО «Колхоз-племзавод имени Чапаева»				
M±m	544,4±27,1	803,8±52,3***	970,9±71,1***	924,0±76,8***
В среднем по опытной группе				
M±m	534,0±17,2	730,4±36,3***	817,8±51,7***	807,6±49,9***
II опытная группа (n=20)				
СПК колхоз-племзавод «Казьминский»				
M±m	774,0±16,3	758,1±29,1	741,1±32,6	769,2±30,7
ООО «Колхоз-племзавод имени Чапаева»				
M±m	814,1±22,3	988,6±53,8**	1000,8±60,5*	965,3±58,0*
В среднем по опытной группе				
M±m	794,0±14,2	873,3±39,8	870,9±44,8	867,2±39,1
III опытная группа (n=20)				
СПК колхоз-племзавод «Казьминский»				
M±m	1048,1±29,8	1029,1±32,6	985,6±33,8	928,9±34,3*
ООО «Колхоз-племзавод имени Чапаева»				
M±m	1111,9±43,4	1165,0±60,3	1145,1±89,6	1135,0±50,7
В среднем по опытной группе				
M±m	1080,0±26,6	1097,1±36,8	1065,4±50,1	1032,4±38,1

Примечание: $P \geq 0,95^*$; $P \geq 0,99^{**}$; $P \geq 0,999^{***}$

ВЫВОДЫ/CONCLUSION

В зоне недостаточного увлажнения Ставропольского края в большинстве дней летних месяцев температура и влажность воздуха соответствовала пороговым, минимальным и средним значениям теплового стресса для крупного рогатого скота молочного направления продуктивности. Удой животных I опытной группы достоверно увеличивался по месяцам лактации. Величина удоя первого и четвертого месяцев лактации животных II и III опытных групп достоверно не различалась. Таким образом, у средне- и высоко-

продуктивных животных голштинской и чёрно-пёстрой пород, при минимальных и средних значениях теплового стресса, не происходит достоверного изменения удоя по месяцам лактации.

MILK PRODUCTIVITY OF HOLSTEIN AND BLACK-AND-WHITE COWS UNDER HEAT STRESS

Kovaleva G.P. – PhD (Agriculture), leading researcher, Associfte Professor (ORCID 0000-0002-6655-2225Ф); Lapina M.N. – PhD (biological), leading researcher (ORCID 0000-0002-7651-8450); Sulyga

N.V. – PhD (biological), leading searcher (ORCID 0000-0002-9724-6271); Vitol V.A. – PhD (Agriculture), leading searcher (ORCID 0000-0002-5254-5200).

Norht Caucasian Scientific Agrarian Center

*skotovodstvo-sniizhk.@yandex.ru

ABSTRACT

Due to the widespread warming of the climate and an increase in the duration of the hot, dry period, heat stress is becoming an urgent problem of dairy cattle breeding. Highly productive animals are most sensitive to temperature stress, during which their daily milk yields can decrease significantly. The aim of the research was to study the dynamics of milk yields of dairy cows during the first four months of lactation in the summer. The studies were carried out in two farms located in the zone of insufficient moisture in the Stavropol Territory. The first farm is engaged in breeding Holstein cattle, the second is a black-and-white breed. In each farm, 3 experimental groups of animals were formed, 10 heads each, with an average daily milk yield in the first month of lactation: I experimental group – up to 20 kg; I experimental group – 20-30 kg; I experimental group – more than 30 kg of milk. The value of temperature stress was determined based on daily temperature and humidity data. In May, the absolute majority of days corresponded to the optimal values of temperature and humidity for keeping dairy cattle in both farms. In June and August, days with minimal and moderate heat stress prevailed. The milk yield of animals in the first experimental group increased significantly over the months of lactation. The milk yield of the first and fourth months of lactation of animals of the III and III experimental groups did not significantly differ. Thus, in medium-and highly productive animals of Holstein and black-and-white breeds, with minimal and average values of thermal stress, there is no significant change in milk yield over the months of lactation.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Тепловой стресс и его влияние на продуктивность дойных коров. Ценовик. Сельскохозяйственное обозрение. Корма и кормовые добавки. 2015. URL: www.tsenovik.ru/articles/korma-i-kormovye-dobavki. (дата обращения: 05.02.2024).
2. Формула теплового стресса у коров. URL: Agrovesti.net/lib/tech/cattle-tech/teplovoj-... (дата обращения: 22.02.2024).
3. Изучение негативного влияния теплового стресса на показатели молочной продуктивности коров при различных способах содержания /Муханина Е.Н., Шакиров Ш.К., Сафина Н.Ю., Гайнутдинова Э.Р. // Международный вестник ветеринарии. 2024. № 4. С. 509-517. DOI: 0.52419/issn2072-2419/2024/509.
4. Оценка коров голштинской породы по гену белка теплового шока /Загидуллин Л.Р., Хисамов Р.Р., Шайдуллин Р.Р. и др. // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2024. Т. 257, № 1. С. 78-83. DOI: 10.31588/2413_4201_1883_1_257_78.
5. Патологические особенности теплового стресса у коров с гепатобилиарными нарушениями / Кузьминова Е.В., Рудь Е.Н., Семенов М.П., Роголев А.А. // Ветеринария Кубани. 2022. № 3. С. 21-23. DOI: 10.33861/2071-8020-2022-3-21-23.
6. Ковалева Г.П., Лапина М.Н., Сулыга Н.В. Влияние теплового стресса на воспроизводительную способность молочных коров и способы её коррекции // Сельскохозяйственный журнал. 2022. № 2 (15). С. 58-65. DOI: 10.25930/2687-1254/007.2.15.2022.
7. Burgos Z.R., Collier R.J. Feeding Strategies for High-Producing Dairy Cows During Periods of Elevated Heat and Humidity // Proc. 20th Annual Tri-State Dairy Nutrition Conference. 2011. С. 111-126.

REFERENCES

1. Heat stress and its impact on the productivity of dairy cows. Tsenovik. Agricultural Review. Feed and Feed Additives. 2015 Jul 9. Available from: www.tsenovik.ru/articles/

- korma-i-kormovye-dobavki. (Accessed 2024 Feb 5).
2. Formula for heat stress in cows. Available from: [Agrovesti.net/lib/tech/cattle-tech/teplovoj-...](https://agrovesti.net/lib/tech/cattle-tech/teplovoj-...) (Accessed 2024 Feb 22).
3. Mukhanina E.N., Shakirov Sh.K., Safina N.Yu., Gainutdinova E.R. Study of the negative impact of heat stress on milk productivity indicators of cows under different housing conditions. *International Veterinary Bulletin*. 2024;4:509-517. DOI: 0.52419/issn2072-2419/2024/509.
4. Zagidullin L.R., Khisamov R.R., Shaidullin R.R., et al. Assessment of Holstein cows by the heat shock protein gene. *Scientific Notes of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman*. 2024;257(1):78-83. DOI: 10.31588/2413_4201_1883_1_257_78.
5. Kuz'minova E.V., Rud' E.N., Semenenko M.P., Rogalev A.A. Pathophysiological features of heat stress in cows with hepatobiliary disorders. *Veterinary Medicine of Kuban*. 2022;3:21-23. DOI: 10.33861/2071-8020-2022-3-21-23.
6. Kovaleva G.P., Lapina M.N., Suliga N.V. The influence of heat stress on the reproductive capacity of dairy cows and methods for its correction. *Agricultural Journal*. 2022;2(15):58-65. DOI: 10.25930/2687-1254/007.2.15.2022.
7. Burgos Z.R., Collier R.J. Feeding strategies for high-producing dairy cows during periods of elevated heat and humidity. *Proc. 20th Annual Tri-State Dairy Nutrition Conference*. 2011. pp. 111-126.

УДК: 636.52/.58:575.852:637.07

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.168

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА «АЗОКСИВЕТ» НА ФАКТОРЫ СПЕЦИФИЧЕСКОГО И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА ЦЫПЛЯТ- БРОЙЛЕРОВ

Кореньюга М.В. – асс. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID ID 0000-0002-3549-5969); **Куванов Т.К.** – асп. (ORCID ID 0009-0002-2398-4412); **Капитонова Е.А.*** – проф. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID ID 0000-0003-4307-8433)

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии –МВА имени К. И. Скрябина»

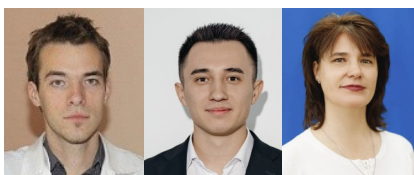
*kapitonovalena1110@mail.ru

Ключевые слова: птицеводство, цыплята-бройлеры, иммуномодуляторы, иммунитет, «Азоксивет», Ньюкаслская болезнь, инфекционный бронхит кур, инфекционная бурсальная болезнь, антитела.

Поступила 24.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Птицеводство ежедневно сталкивается с объективными вызовами обеспечения высокой жизнеспособности птицы в условиях интенсификации отрасли. В настоящей работе, была проведена оценка влияния отечественного иммуномодулирующего препарата «Азоксивет» на поствакцинальный уровень антител цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» к возбудителям ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита кур и инфекционной бурсальной болезни, а также врождённые неспецифические факторы иммунной защиты. Эксперимент проводился в условиях вивария МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Цыплята-бройлеры выращивались напольно, в течение 35 суток. Динамика нарастания специфических титров к Ньюкаслской болезни была выше в опытной группе – на 55,78 % в возрасте 28 суток, на 28,44 % в 33 суток и на 10,49 % в конце эксперимента. К 35 суткам эксперимента также вырос титр к инфекционному бронхиту кур – на 15,88 %, но снизился – на 11,62 % к инфекционной бурсальной болезни. По результатам эксперимента было отмечено изменение показателей неспецифической защиты. При тестировании на ИФА средний титр против инфекционного бронхита кур, к концу эксперимента был выше в опытной группе, чем в контроле – на 15,88 %. Однако, против инфекционной бурсальной болезни группа получавшая «Азоксивет» имела меньшие титры антител – на 11,62%. Нами было отмечено что, при снижении БАСК – на 3,69 % и ЛАСК – на 13,35 % повышались ФА – на 14,25 %, ФИ – на 1,05 % и ФЧ – на 0,91 %, по сравнению с контрольной группой. На основании проведенных исследований рекомендуем применение «Азоксивет» в дозе 0,3 мг/кг живой массы птицы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В нашей стране отрасль птицеводства является ведущей подотраслью животноводства. Иммунная система является одним из ключевых компонентов здоровья птиц. Эффективность ее работы напрямую влияет на рост, развитие, продуктивные и воспроизводительные качества птицы [1, 9]. В условиях интенсификации отрасли птицеводства, где достижения высоких темпов роста, активизация физиологических процессов организма и минимизация болезней стоят на первом месте, исследования в области применения эффективности иммуномодуляторов становятся особенно актуальными [7, 10].

В период возрастных иммунодефицитов, повышается риск того, что организм может не справиться, не только с полевыми инфекционными агентами, но и вакцинами штаммами возбудителей [2, 4]. Долгое время снизить нагрузку на иммунитет позволяли кормовые антибиотики, однако учитывая запрет на их использование, принятый в 2006 году в странах Европейского союза, животноводство вынуждено отказаться от такого удобного и простого способа профилактики болезней, как применение антибактериальных веществ. Повсеместное и зачастую бесконтрольное их применение, явилось главной причиной появления бактерий, обладающих устойчивостью к известным антибиотикам. Современная наука предлагает альтернативные пути решения этой проблемы, каждый из которых обладает как достоинствами, так и недостатками [3, 5].

Одним из таких вариантов, являются препараты, помогающие активизировать защитные механизмы птиц и усилить иммунный ответ [6, 8]. Наше внимание привлек отечественный синтетический иммуномодулятор «Азоксивет», который способен модулировать как специфические, так и неспецифические реакции иммунной системы у птиц. Считаем, что данные иммунных показателей цыплят-бройлеров позволяют более глубоко понять его роль в стимуляции жизнеспособности птиц, что в целом приведет к повышению эффек-

тивности отрасли птицеводства. Полученные результаты могут стать основой для разработки новых стратегий управления иммунным статусом в птицеводстве.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Цель – оценка влияния иммуномодулятора «Азоксивет» на факторы специфического и неспецифического иммунитета цыплят-бройлеров.

Влияние иммуномодулятора «Азоксивет» на факторы специфического и неспецифического иммунитета было изучено в эксперименте, проведенном в условиях вивария МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Объектом исследования служили цыплята-бройлеры кросса «Росс-308» (Aviagen, США) с 1 по 35 суточного возраста. По принципу пар-аналогов нами было сформировано 2 группы птиц, по 55 голов в каждой: I – контрольная группа и II – опытная, получавшая иммуномодулятор «Азоксивет» в суточном возрасте и перед каждой вакцинацией (таблица 1).

Для кормления применяли полнорационные комбикорма ПК-5 (1-7 сутки) и ПК-6 (8-34 сутки). Кормление и поение птицы не ограничивали. В виварии академии условия кормления и содержания птиц соответствовали требованиям животноводства по выращиванию цыплят финального гибрида кросса «Росс-308» при напольной системе выращивания. Исследования проводились согласно требованиям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, Страсбург, 1986).

В суточном возрасте у 5 голов из каждой группы, методом декапитации производили отбор крови для оценки материнских антител к ИББ, ИБК и НБ. Так же кровь отбиралась у птиц в возрасте 17, 28, 33 и 35 суток, из плечевой вены, с соблюдением правил асептики и антисептики, в одноразовые пробирки. В серологических исследованиях использовали тест-системы на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) ID Screen® IBD Indirect, ID Screen® Infec-

tious Bronchitis Indirect 2.0 (ID.vet, Франция) и набора для выявления антител к вирусу НБ в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) (Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных», Россия). Полученные результаты обрабатывали в программном обеспечении ID Soft™ (ID.vet, Франция).

Показатели неспецифического иммунитета (индикаторы лизоцимной (ЛАСК), бактерицидной (БАСК) и фагоцитарной (ФА) активности) были исследованы по модифицированным методикам с использованием микробиологического анализатора Multiskan FC (ThermoFisher Scientific Inc, Финляндия).

Оптимальная дата вакцинации против ИББ рассчитывалась по формуле Девентера.

$$ВВ = (\log_2 ИТ - \log_2 ЦТ) \times ПП + В,$$

где, ВВ – оптимальный возраст вакцинации,

ИТ – исходный средний титр материнских антител,

ЦТ – целевой титр материнских антител,

ПП – период полураспада,

В – возраст птицы в момент взятия крови.

Для вакцинации нами были выбраны живые вакцины: «Авивак ИББ» штамм «Винтерфилд 2512» (НПП «Авивак», Россия), «Авивак-ИБК» штамм «Н-120» (НПП «Авивак», Россия) и «Авивак-НБ» штамм «Ла-Сота» (НПП «Авивак», Россия). Способ применения – интраназальное (интраокулярное) введение согласно инструкции производителя. Введение иммуномодулятора «Азоксивет» осуществлялось индивидуально, перорально с использованием пипеток. Для создания одинакового стрессового воздействия, птицы контрольной группы получали физиологический раствор по аналогичной методике.

Статистическую обработку результатов проводили методом вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel 2010.

Таблица 1 – Схема эксперимента

Группа	Количество голов, гол.	Особенности эксперимента
I - контроль	55	Основной рацион (ОР) + плацебо
II - опытная	55	ОР + «Азоксивет» в дозе 0,3 мг/кг живой массы птицы в 1-, 8-, 12- и 17-е сутки одновременно с вакциной против ИБК, ИББ, НБ, соответственно

	I - контроль (55 голов)	II - опытная (55 голов)
1 сутки	плацебо	«Азоксивет» в дозе 0,3 мг/кг , энтерально.
8 сутки	Вакцинация ИБК, интраокулярно + плацебо энтерально.	Вакцинация ИБК, интраокулярно + «Азоксивет» в дозе 0,3 мг/кг , энтерально
12 сутки	Вакцинация ИББ + плацебо, энтерально.	Вакцинация ИББ + «Азоксивет» в дозе 0,3 мг/кг , энтерально.
17 сутки	Вакцинация НБ, интраназально+плацебо энтерально.	Вакцинация НБ, интраназально+«Азоксивет» в дозе 0,3 мг/кг , энтерально.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Полученные результаты по определению титра специфических антител к возбудителю Ньюкаслской болезни (НБ), по окончании научно-хозяйственного эксперимента, представлены в таблице 2.

Из представленных в таблице 2 показателей, в суточном возрасте, титр специфических антител составлял 2,8 log₂ в контрольной группе и 2,6 log₂ в опытной, т.е. 60 % проб достигали защитных титров. На 17 сутки, средний титр снизился у птиц контрольной и опытной групп до 1,2 log₂ и 1,16 log₂, соответственно, вся птица была восприимчива к возбудителю. Через 11 суток после вакцинации, птица опытной группы была иммунна в 100 % исследований, средний титр антител со-

ставлял 5,5 log₂ против 3,6 log₂ в контроле (55,78 %), где 40 % титров было ниже защитных. На 33 сутки титр антител в опытной группе был более однородным (13,64 %) и составил 5,6 log₂ против 4,36 log₂ в контроле, где иммунных было только 80 %.

В конце эксперимента вся птица достигла защитного титра антител, но в опытной группе, где применялся иммуномодулятор «Азоксивет», титры были более однородными (16,92 %) и высокими (6,32 log₂) по сравнению с группой контроля (19,23 %, 5,72 log₂).

На рисунке 1 представлены результаты серологических исследований (РТГА) на наличие АТ к вирусу Ньюкаслской болезни (НБ).

Таблица 2 – Титр специфических антител к возбудителю Ньюкаслской болезни, (M±m)

Группа	Логарифмическое значение титров антител (log ₂)	CV, %	Иммунных, %	Δк контролю
1 сутки, n=5				
контроль	2,8±0,37	63,89	60	-
«Азоксивет»	2,6±0,34	64,36	60	-
17 сутки, n=25				
контроль	1,2±0,12	48,11	0	-
«Азоксивет»	1,2±0,13	53,84	0	-
28 сутки, n=25				
контроль	3,6±0,29	39,28	60	-
«Азоксивет»	5,5±0,26	22,87	100	+40
33 сутки, n=25				
контроль	4,4±0,31	34,33	80	-
«Азоксивет»	5,6±0,16	13,64	100	+20
35 сутки, n=25				
контроль	5,7±0,22	19,23	100	-
«Азоксивет»	6,3±0,22	16,92	100	-

На рисунке 1 изображен график динамики титров антител цыплят-бройлеров против возбудителя Ньюкаслской болезни. В обеих группах мы наблюдаем сходные картины, где в начале титры антител держатся умеренных значений за счёт содержания материнских антител. Однако к 17-м суткам отмечается снижение титров, формируя так называемую «титровую яму» – фазу минимальной иммунной защиты, что повышает риск инфицирования при контакте с возбудите-

лем. В дальнейшем, к 28-м суткам, отмечается повышение титра уже собственных специфических антител, обеспечивающих невосприимчивость организма к вирусу Ньюкаслской болезни.

В таблице 3 представлены результаты серологических исследований (ИФА) на наличие специфических АТ к вирусам инфекционного бронхита кур (ИБК) и инфекционной бурсальной болезни (ИББ).

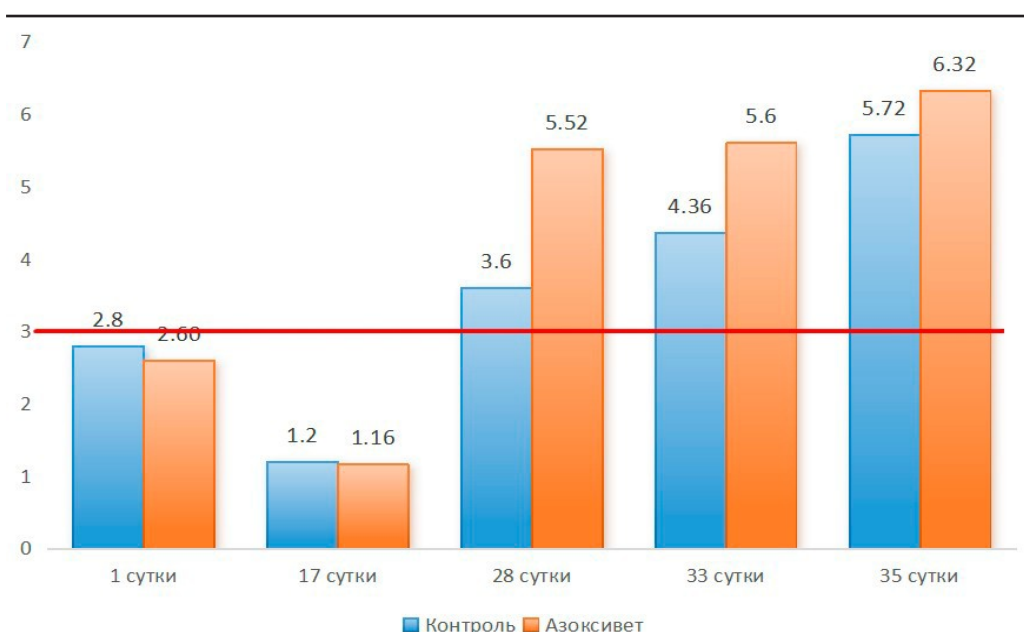


Рисунок 1 – Титр специфических АТ к Ньюкаслской болезни красной линией отмечен минимальный защитный титр равный разведению 1:8 или 3 log₂.

Таблица 3 – Динамика титра специфических антител к возбудителям инфекционного бронхита и инфекционной бурсальной болезни, (M±m)

Группа	1 сутки, n=5		35 сутки, n=25	
	титр	CV, %	титр	CV, %
ИБК				
контроль	19379,48±314,07	7,94	14951,09±710,85	23,29
«Азоксивет»	18754,51±388,37	10,14	17324,61±615,87	17,42
ИББ				
контроль	5436,74±363,05	32,71	7511,11±434,55	28,34
«Азоксивет»	5497,7±352,98	31,45	6638,43±652,3	48,14

Анализируя данные представленные в таблице 3 можно сделать вывод, что анти-тела против ИБК в крови суточных цыплят кросса «Росс-308» в среднем обнаруживались у птицы контрольной группы в пределах титра 19379,48 (cv=7,94), а у опытной группы – 18754,51 (cv=10,94). Аналогичные показатели в суточном возрасте против инфекционной бурсальной болезни (ИББ) составили 5436,74 (cv=32,71) и 5497,7 (cv=31,45) в контрольной и опытной группе соответственно.

В конце эксперимента концентрация титра антител против инфекционного бронхита кур у 35-суточных цыплят была на 15,88 % выше, при этом они были более однородными, 17,42 % против 23,29 % в контроле. Титр антител против инфекционной бурсальной болезни на фоне применения иммуномодулятора, напротив, снизился и составил – 6638,43, что было на 11,62 % ниже показателей контроля. Коэффициент вариации составил – 48,14 %.

Изучение показателей неспецифического иммунитета показало различия между подопытными группами цыплят-бройлеров кросса «Росс-308». Полученные результаты представлены в таблице 4.

Из данных таблицы 4 видно, что у птиц опытной группы наблюдалось снижение общей бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) – на 3,69 %, лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК) – на 13,35 %. Увеличение содержания лизоцима у бройлеров опытной

группы отмечено – до 0,47 мкг/мл, что было на 38,24 % выше, чем контрольной группе. Также нами было отмечено увеличение его активности в 2,1 раза.

У птиц опытной группы, которым задавался иммуномодулятор «Азоксивет», возрастали показатели фагоцитарной активности (ФА), фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ) – на 14,25 %, 1,05 % и 0,91 %, соответственно, относительно группы контроля.

Таблица 4 – Показатели неспецифического иммунитета цыплят-бройлеров, (M±m, n=10)

Показатель	Группа		Δк контролю, %
	контроль	«Азоксивет»	
БАСК, %	46,66±0,51	42,97±32,79	-3,69
Лизис, %	34,3225±0,72	20,97±2,13	-13,3525
Уд.ед.а, ед.а/мг. белка (15 минут)	1,94±0,09	4,12±0,01	+212,37
Лизоцим, мкг/мл сыворотки	0,34±0,02	0,47±0,01	+138,24
Фагоцитарная активность (ФА) %	30,5±0,26	44,75±0,26	+14,25
Фагоцитарный индекс (ФИ)	3,11±0,11	4,16±0,1	+1,05
Фагоцитарное число (ФЧ)	0,95±0,03	1,86±0,04	+0,91

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Данные серологического анализа, полученные в суточном возрасте, характерны для уровня материнских антител и является следствием иммунизации кур родительского стада перед яйцекладкой. Результаты полученные в возрасте 17-, 28-, 33- и 35 суток свидетельствуют о положительном влиянии иммуномодулятора «Азоксивет» на специфический иммунитет против возбудителя НБ. В опытной группе РТГА титры антител нарастали гораздо быстрее, чем в контрольной группе. На 28 сутки опытная группа была полностью иммунна к возбудителю НБ, а средний титр был выше на 55,78 %, чем в контроле. На 33 и 35 сутки тенденция сохранилась, титры в опытной группе были выше и однороднее, что можно интерпретировать как стимулирующее дей-

ствие иммуномодулятора «Азоксивет» на поствакцинальный иммунный ответ против Ньюкаслской болезни.

В ИФА средний титр против ИБК, к концу эксперимента так же был выше и однороднее в опытной группе, чем в контроле – на 15,88 %, что снижает риск возникновения заболевания полевым штаммом ИБК. Против ИББ группа получавшая «Азоксивет», напротив, имела меньшие титры антител – на 11,62%, что может негативно сказаться на защищенности птицы.

Так же на фоне применения иммуномодулятора изменились показатели неспецифической защиты организма, при снижении БАСК – на 3,69 % и ЛАСК – на 13,35 % отмечалось повышение ФА – на 14,25 %, ФИ – на 1,05 % и ФЧ – на 0,91 %, по сравнению с контрольной группой.

ASSESSMENT OF THE IMPACT OF THE IMMUNOMODULATOR AZOXIVET ON THE FACTORS OF SPECIFIC AND NONSPECIFIC IMMUNITY IN BROILER CHICKENS

Korenyuga M.V. – assistant of the Department of Zoohygiene and Poultry Farming named after A.K. Danilova (ORCID ID 0000-0002-3549-5969); **Kuvanov T.K.** – postgraduate student of the 3rd year of training (ORCID ID 0009-0002-2398-4412); **Kapitonova E.A.*** – Doctor of Biology Sci., Associate Professor, Professor of the Department of Animal Hygiene and Poultry Science named after A.K. Danilova (ORCID 0000-0003-4307-8433).

FSBEI HE «Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin», s. Moscow, Russia

*kapitonovalena1110@mail.ru

ABSTRACT

Poultry farming face's objective challenges every day to ensure high viability of poultry in the context of industry intensification. In this work, an assessment was made of the influence of the domestic immunomodulatory drug "Azoxivet" on the post-vaccination level of antibodies of broiler chickens of the "Ross-308" cross to the pathogens of Newcastle disease, infectious bronchitis of chickens and infectious bursal disease, as well as congenital non-specific factors of immune protection. The experiment was conducted in the vivarium of the Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – the K.I. Skryabin Veterinary Academy. Broiler chickens were raised on the floor for 35 days. The dynamics of the increase in specific titers to Newcastle disease was higher in the experimental group – by 55.78% at the age of 28 days, by 28.44% at 33 days and by 10.49% at the end of the experiment. By day 35 of the experiment, the titer to infectious bronchitis of chickens also increased by 15.88%, but decreased by 11.62% to infectious bursal disease. According to the results of the experi-

ment, a change in the indicators of non-specific protection was noted. When testing for ELISA, the average titer against infectious bronchitis of chickens by the end of the experiment was higher in the experimental group than in the control - by 15.88%. However, against infectious bursal disease, the group receiving "Azoxivet" had lower antibody titers - by 11.62%. We noted that, with a decrease in BASK - by 3.69% and LASK - by 13.35%, FA increased - by 14.25%, FI - by 1.05% and FC - by 0.91%, compared to the control group. Based on the conducted research, we recommend the use of "Azoxivet" at a dose of 0.3 mg/kg of live weight of the bird.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ветеринарная технология защиты выращивания ремонтного молодняка птицы в ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика» / П.М. Кузьменко, М.А. Гласкович, Е.А. Капитонова [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская орден «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». 2011. Т. 47. № 1. С. 399-403.
2. Внутренние болезни животных / Г.Г. Щербаков, А.В. Коробов // Учебник для вузов. – СПб.: Изд. «Лань», 2005, 736 с.
3. Капитонова Е.А. Профилактика дисбактериозов / Е.А. Капитонова // в сборнике: «Экология и инновации». Материалы VII Международной научно-практической конференции. – ВГАВМ, 2008. С. 100-101.
4. Комплексная терапия и терапевтическая техника в ветеринарной медицине: учебное пособие / Под общей редакцией А.А. Стекольников. – СПб.: Изд. «Лань», 2007 – 288с.
5. Кочиш И.И. Биология и патология сельскохозяйственной птицы: учебник / И.И. Кочиш, В.И. Смоленский, В.И. Щербаков // Москва, 2018. – 386 с.
6. Микробиология: учебно-методическое пособие для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальности «Зоотехния» / Соляник Т.В., Гласкович М.А., Красочко П.А. [и др.] – В 2-х частях. Том Часть 1. Общая микро-

биология. – Горки, 2014. – 82 с.

7. Молекулярная биология: учебное пособие / Л.Ю. Карпенко, А.А. Бахта, А.И. Козицына [и др.]. – СПбГУ, 2020. – 240 с.

8. Сурай П.Ф. Ассимиляция и действие НАНО-Se у птицы и других моногастричных животных: микробиота кишечника – это ответ? / П.Ф. Сурай, И.И. Кочиш, О.А. Величко // *Nanoscale Research Letters*/ 2017. Т. 12. № 1. С. 612.

9. Технологии производства и переработки продукции животноводства: учебное пособие / Улимбашев М.Б. [и др.]. // ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ»; изд-во «Ставрополь-Сервис-Школа». – Ставрополь, 2024. – 207 с.

10. Физиология пищеварения: методические указания для практических занятий по теме / Л.Ю. Карпенко, Н.А. Панова, А.Б. Балыкина [и др.]. – СПбГУ, 2022. – 37 с.

REFERENCES

1. Veterinary technology for protecting the rearing of young poultry at OJSC Vitebsk Broiler Poultry Farm / P.M. Kuzmenko, M.A. Glaskovich, E.A. Kapitonova [et al.] // *Scientific notes of the educational institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine"*. 2011. Vol. 47. No. 1. Pp. 399-403.

2. Internal diseases of animals / G.G. Shcherbakov, A.V. Korobov // *Textbook for universities*. - St. Petersburg: Publishing House "Lan", 2005, 736 p. (In Russ.)

3. Kapitonova E.A. Prevention of dysbacteriosis / E.A. Kapitonova // in the collection:

"Ecology and Innovations". Proceedings of the VII International Scientific and Practical Conference. - VGAVM, 2008. Pp. 100-101.

4. Complex therapy and therapeutic equipment in veterinary medicine: a textbook / Under the general editorship of A.A. Stekolnikov. - St. Petersburg: Publishing House "Lan", 2007 - 288 p. (In Russ.)

5. Kochish I.I. Biology and pathology of agricultural poultry: textbook / I. Kochish, V.I. Smolensky, V.I. Shcherbatov // Moscow, 2018. - 386 p. 6. Microbiology: a teaching aid for students of higher education institutions studying in the specialty "Animal Science" / Solyanik T.V., Glaskovich M.A., Krasochko P.A. [and others] - In 2 parts. Volume Part 1. General microbiology. - Gor-ki, 2014. - 82 p. (In Russ.)

7. Molecular biology: a textbook / L.Yu. Karpenko, A.A. Bakhta, A.I. Kozitsyna [et al.]. - SbPSU, 2020. - 240 p.

8. Surai P.F. Assimilation and action of NANO-Se in poultry and other monogastric animals: is the intestinal microbiota the answer? / P.F. Surai, I.I. Kochish, O.A. Velichko // *Nanoscale Research Letters* / 2017. Vol. 12. No. 1. P. 612. (In Russ.)

9. Technologies of production and processing of livestock products: a textbook / Ulimbashev M.B. [et al.]. // FGBNU "North Caucasian Federal Scientific Center"; publishing house "Stavropol-Service-School". - Stavropol, 2024. - 207 p.

10. Physiology of digestion: guidelines for practical classes on the topic / L.Yu. Karpenko, N.A. Panova, A.B. Balykina [et al.]. - SbPSU, 2022. - 37 p. (In Russ.)

УДК: 636.5.082.12+612.017.1:636.5
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.2.176

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ИММУНИТЕТА В ТКАНЯХ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ КОМПЛЕКСА АДАПТОГЕНОВ

Вьючная П.С.* – мл. науч. сотр. лаборатории фундаментальных основ питания с/х животных и рыб (ORCID 0009-0008-4669-2395); **Лахонин П.Д.** – мл. науч. сотр. лаборатории фундаментальных основ питания с/х животных и рыб (ORCID 0000-0002-7354-0337); **Бардуков Н.В.** – науч. сотр. лаборатории генетических технологий в агро- и аквахозяйстве (ORCID 0000-0002-5497-2409); **Боголюбова Н.В.** – д-р. биол. наук, вед. науч. сотр., зав. отделом физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных (ORCID 0000-0002-0520-7022).

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства
– ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

*vyuchnaya@gmail.com

Ключевые слова: «смена-9», стресс, экспрессия генов, дигидрокверцетин, аскорбиновая кислота, токоферол

Keywords: «smena-9», stress, gene expression, dihydroquercetin, ascorbic acid, tocopherol

Финансирование: исследования проведены при финансовой поддержке Российского Научного Фонда по проекту 22-16-00024 П.

Поступила: 30.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025
Опубликована онлайн: 20.06.2025

РЕФЕРАТ



Современные технологии в птицеводстве часто сопряжены со стрессовыми факторами, вызывающими дисбаланс между образованием свободных радикалов и антиоксидантной защитой, что может привести к развитию окислительного стресса. В связи с этим, поддержание оптимальной работы иммунной системы и усиление антиоксидантной защиты, особенно с использованием экзогенных антиоксидантов, приобретает ключевое значение для здоровья и адаптации птиц. Целью работы являлась оценка влияния комплексной добавки ДКВЕС (дигидрокверцетин, витамины Е и С) на экспрессию генов антиоксидантной защиты и иммунитета в тканях печени и кишечника цыплят-бройлеров при моделированном стрессе. Эксперимент проведен на цыплятах-бройлерах кросса «Смена-9» (n=40, N=160). Были сформированы контрольная и три опытные группы, подвергнутые стрессу (увеличение плотности посадки на 10%). Дополнительно к основному рациону третьей (с 21 дня эксперимента) и четвертой (с 1 дня эксперимента) группам добавляли комплекс адаптогенов ДКВЕС: дигидрокверцетин (32 мг/кг корма), витамин Е (10 мг/кг корма) и витамин С (35 мг/кг корма). Методом ПЦР-РВ определяли экспрессию генов *Nrf2*, *GSH-Gpx*, *CAT*, *SOD*, *HO-1*, *AvBD9*, *IL6* и *IL8* в печени и слепом кишечнике. Результаты показали, что моделируемый стресс вызывал снижение активности *Nrf2* и *GSH-Gpx* в

тканях кишечника и печени, а также снижение экспрессии *AvBD9*, что свидетельствует о подавлении защитных механизмов организма. Профилактическое применение ДКВЕС смягчало негативное воздействие стресса, увеличивая активность генов *Nrf2*, *GSH-Gpx* и *HO-1*, а также стимулируя экспрессию *AvBD9* и *IL-6*. Кроме того, выявлена положительная корреляция между экспрессией гена *AvBD-9* в кишечнике бройлеров и среднесуточным приростом. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования комплекса ДКВЕС для повышения устойчивости цыплят-бройлеров к стрессу и улучшения их продуктивных качеств.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В клетке поддерживается баланс между образованием эндогенных свободных радикалов в процессе метаболизма и их нейтрализацией защитными системами организма [1]. Сложная антиоксидантная система птиц включает ферментативные и неферментативные низкомолекулярные антиоксиданты [2]. Супероксидные радикалы ($O_2^{\cdot -}$) и перекиси водорода (H_2O_2) нейтрализуются ключевыми ферментами первой линии защиты: супероксиддисмутазой (SOD), глутатионпероксидазой (GSH-Px), каталазой (CAT), а также ко-факторами, такими как глутатион (GSH) и тиоредоксин (Trx-SH) [3]. Эффективность ферментных антиоксидантов дополняется биоантиоксидантами, такими как токоферолы, аскорбиновая кислота, каротиноиды и фенольные соединения, которые поглощают свободные радикалы путем отдачи атома водорода или электрона [4, 5, 6].

Современные технологии в птицеводстве сопряжены с комплексом стрессоров, которые часто приводят к дисбалансу между избыточным образованием свободных радикалов и ослаблением антиоксидантной защиты, провоцируя развитие окислительного стресса [2, 7]. При окислительном стрессе нарушается окислительно-восстановительный баланс клеток, что влияет на активацию ферментов, передачу сигналов и экспрессию генов, а также может вызвать повреждение иммунных клеток. Окислительный стресс тесно связан с воспалением, формируя так называемый окислительно-воспалительный каскад, при котором окислительное повреждение усиливает воспаление [8, 9].

Важность антиоксидантной защиты

неоспорима, и она дополняется оптимальной работой иммунной системы птиц, которые в совокупности имеют решающее значение для поддержания здоровья и адаптации птиц к внешним условиям [10]. Экзогенные антиоксиданты приобретают особую значимость при развитии окислительного стресса. Биоантиоксидант токоферол (витамин Е) – значимый компонент липидной мембраны, который сохраняет её целостность, подавляя процесс перекисного окисления липидов [3]. Он повышает уровень супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в сыворотке крови, стимулирует пролиферацию Т-клеток, активируя иммунную систему и снижая уровень цитокинов [11]. Другим важным витамином является аскорбиновая кислота (витамин С), которая нейтрализует свободные радикалы через обратимое окисление [12]. Кроме того, витамин С взаимодействует с глутатионом, способствуя восстановлению токоферола в клеточных мембранах, что усиливает антиоксидантную защиту [13]. Хотя большинство видов птиц способны синтезировать аскорбиновую кислоту самостоятельно, в стрессовых условиях метаболические потребности организма могут превышать его синтезирующие возможности [9]. Кроме указанных витаминов, флавоноиды, включая дигидрокверцетин (таксифолин), содержащийся в луке, растопше и различных растениях рода *Larix*, обладают еще более выраженными антиоксидантными свойствами. Антиоксидантная активность флавоноидов обусловлена наличием гидроксильных групп, связанных с атомами углерода в бензольном кольце. Защитное действие флавоноидов реализуется через несколько механизмов: нейтрализацию свободных ради-

калов, ингибирование ферментов, участвующих в их образовании, а также хелатирование ионов металлов [14, 15, 16].

Предыдущие исследования демонстрируют эффективность синергетического действия аскорбиновой кислоты, токоферола и дигидрохверцетина в усилении антиоксидантной защиты свиней при стрессе [17]. Учитывая данную перспективу, актуальным представляется изучение данного комплекса на быстрорастущих цыплятах-бройлерах с высоким метаболизмом и чувствительностью к условиям содержания.

Целью настоящего исследования является оценка влияния комплексной добавки ДКВЕС (дигидрохверцетин, витамины Е и С) на экспрессию генов антиоксидантной защиты и иммунитета в тканях печени и кишечника цыплят-бройлеров при моделированном стрессе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эксперимент проведен на цыплятах-бройлерах отечественного кросса Смена-9 (n=40, N общ.=160) в условиях физиологического двора ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста в 2024 году. Продолжительность эксперимента составила 46 дней. Все зоогигиенические параметры соответствовали требованиям [18]. Были сформированы 4 группы: одна контрольная и 3 опытные. Контрольная группа (Стресс-) содержалась в условиях рекомендованной плотности посадки для данного кросса [18] и получала основной рацион (ОР) в течение всего периода эксперимента. Для опытных групп (Стресс+) с 22 дня жизни увеличивали плотность посадки на 10% для моделирования стрессовых условий. В качестве основного рациона использовали полнорационный комбикорм (ООО «Майские Просторы», г. Сергиев Посад), сбалансированный по питательным, биологически активным веществам и энергии в соответствии с периодом выращивания птицы: до 11 суток – стартовый комбикорм, с 12 по 26-е сутки – ростовой, с 27-х суток по 45-е сутки – финишный. Дополнительно к основному рациону третьей (начиная с 21

дня эксперимента) и четвертой (с 1 дня эксперимента) опытными группам добавляли комплекс ДКВЕС. Комплекс адаптогенов представляет собой порошок, содержащий дигидрохверцетин («Экостимул-2», АО Аметис, Россия; содержание ДКВ 72-73 %) в дозе 32 мг/кг корма, витамин Е (ИННОВИТ Е60, ГК «МЕГАМИКС», Россия) – 10 мг/кг корма, витамин С (Тайгер С 35, «Anhui Tiger Biotech Co. Ltd.», ПВИ-2-2.15/04504, Китай) – 35 мг/кг корма.

В конце эксперимента были отобраны образцы печени и слепого кишечника от каждой группы бройлеров (n=10, N=40). Подготовка образцов осуществлялась согласно требованиям [19]. Образцы были помещены в раствор IntactRNA (Евроген, Россия) и хранились при температуре -20°C. Тотальную РНК из образцов выделяли с помощью набора «РНК-Экстран» (НПК «Синтол», Россия) согласно инструкции производителя. При помощи набора реагентов «ОТ-1» для обратной транскрипции (НПК «Синтол», Россия) проводили реакцию обратной транскрипции для получения кДНК на матрице РНК. Амплификацию проводили в соответствии с протоколом производителя на амплификаторе детектирующем Quant Studio 5 Real-Time ПЦР (Thermo Scientific, США). Режим и условия амплификации: 5 мин при 95°C (предварительная денатурация); 30 с при 95°C, 30 с при 60°C, 30 с при 70°C (40 циклов). Реакцию амплификации с праймерами генов проводили при помощи набора реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green I и референсного красителя ROX (НПК «Синтол», Россия), последовательности праймеров для выбранных генов приведены в таблице 1. Определяли экспрессию генов, отвечающих за антиоксидантную защиту и участвующих в развитии иммунного ответа в опыте относительно контроля. Расчет относительной экспрессии был произведен при помощи метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [20]. В качестве референсного гена был выбран ген белка b-Actin птицы (ACTB).

Таблица 1 – Описание генов и праймеров, использованных в работе

Ген	Расшифровка	Последовательность (5'-3')
<i>SOD</i>	Супероксиддисмутаза	F: CGGGCCAGTAAAGGTTACTGGAA
		R: TGTTGTCTCCAAATTCATGCACATG
<i>GSH-Px</i>	Глутатионпероксидаза	F: GCATCCGCTTCCACGACTTCCT
		R: CCGCTCATCCGGGTCCAACAT
<i>HO-1</i>	Гемоксигеназа-1	F: GGTCCCGAATGAATGCCCTTG
		R: ACCGTTCTCCTGGCTCTTGG
<i>CAT</i>	Каталаза	F: ACCAAGTACTGCAAGGCGAA
		R: TGAGGGTTCCTCTTCTGGCT
<i>Nrf2</i>	NF-E2–родственный фактор транскрипции 2	F: AAAACGCTGAACCACCAATC
		R: GCTGGAGAAGCCTCATTGTC
<i>AvBD-9</i>	Птичий бета дефензин 9	F: AACACCGTCAGGCATCTTCACA
		R: CGTCTTCTTGGCTGTAAGCTGGA
<i>IL6</i>	Интерлейкин 6	F: AGGACGAGATGTGCAAGAAGTTC
		R: TTGGGCAGGTTGAGGTTGTT
<i>IL8</i>	Интерлейкин 8	F: GGAAGAGAGGTGTGCTTGGA
		R: TAACATGAGGCACCGATGTG

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программных пакетов Microsoft Office Excel 2003, STATISTICA 10 (Statistica 13RU, «StatSoft, Inc.», США), с использованием методов описательной статистики, одно- и двухфакторного, корреляционного анализов. Данные были проверены на нормальность распределения по критериям Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Рассчитывали средние значения (M), стандартные ошибки средних ($\pm$ SEM). Для определения статистической достоверности использовали критерий Тьюки, а для расчёта корреляций – коэффициент корреляций Пирсона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$, высокодостоверными — при $p < 0,01$ и $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В Таблице 2 приведены сравнительные данные об уровне экспрессии исследуемых генов в слепых отростках птиц в контрольной (1 группа) и трех экспериментальных группах (2–4 группы). По сравнению с контрольной группой, во всех опытных группах наблюдалось статистически достоверное снижение экс-

прессии генов *Nrf2* ($p < 0,001$) и *GSH-Gpx* ($p < 0,001$). Однако в 4-й экспериментальной группе показатели гена *GSH-Gpx* оказались в несколько раз выше, чем во 2-й группе, а уровень экспрессии *Nrf2* также превышал значения других опытных групп в 4,5 раз. Параллельно зафиксировано увеличение экспрессии гена гемоксигеназы-1 в опытных группах в 1,12, 2,80 и 2,68 раза по сравнению с группой без стресса ($p < 0,05$). Для гена *AvBD9* наблюдается снижение активности во 2-й и 3-й группах относительно контроля, однако в 4-й экспериментальной группе его экспрессия возросла в 1,57 раза ($p < 0,001$). Интерлейкин IL-6 демонстрирует снижение экспрессии во 2 опытной группе с увеличением активности в 3 и 4 группах ($p < 0,05$). По относительной экспрессии других генов (*CAT*, *SOD*, *IL8*) статистически достоверных изменений не выявлено.

Относительная экспрессия генов в печени цыплят-бройлеров дана в таблице 3. В сравнении с контрольной группой отмечено значительное снижение активности транскрипционного фактора *Nrf2* ($p < 0,01$), причем его активность в 3 и 4

группах ниже 2. Уровень глутатионпероксидазы в группах 2 и 3 оказался ниже контрольных значений, тогда как в группе 4 его активность превысила контроль в 1,17 раз ($p < 0,01$). Интерлейкин IL-6 демонстрирует сходную с тканями слепых отростков динамику: его экспрессия возрастает во всех опытных группах, достигая максимума в 4 группе ($p < 0,05$). Для остальных исследуемых генов (CAT, HO-1, SOD, AvBD9, IL8) достоверных изменений в печени не зафиксировано.

В таблице 4 и 5 даны корреляции между показателями относительной экспрессии всех изучаемых генов в разных тканях и среднесуточным приростом (ССП). Отмечена высокая положительная корреляция между среднесуточным приростом (ССП) и экспрессией гена AvBD-9

($r=0,983$). Также выявлена отрицательная корреляция между генами SOD и Nrf2. Обнаружены положительные корреляции между генами HO-1 и IL6, HO-1 и IL8, а также IL8 и IL6. В печени со среднесуточным приростом обнаружена корреляция с каталазой ($r=0,980$). Кроме того, обнаружены корреляции между экспрессией генов CAT и GSH-Px, а также SOD и IL-8.

Мы также провели факторный анализ и отметили достоверную связь в экспрессии некоторых генов со сформированными экспериментальными группами. В слепых отростках кишечника для Nrf2 ($R^2=99,7\%$, $p=0,000000001$), GSH-Px ($R^2=66,5\%$, $p=0,000000003$) и AvBD9 ($R^2=34,2\%$, $p=0,0004$), в печени – GSH-Px ($R^2=21,7\%$, $p=0,008$), Nrf2 ($R^2=23,9\%$, $p=0,005$) и IL6 ($R^2=15,5\%$, $p=0,028$).

Таблица 2 – Относительная экспрессия генов в слепых отростках птицы (n=10)

Гены	Группа				p-value
	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	
CAT	1	1,88±0,43	1,21±0,48	1,19±0,35	0,346
GSH-Gpx	1	0,10±0,006	0,050±0,01	0,76±0,18 ¹	0,000000003
HO-1	1	1,12±0,38	2,80±0,62	2,86±0,73	0,018
SOD	1	3,10±0,72	3,17±0,78	3,10±0,71	0,069
AvBD9	1	0,21±0,09	0,57±0,27	1,57±0,31	0,0004
IL6	1	0,83±0,16	2,07±0,69	2,25±0,51	0,048
IL8	1	1,07±0,34	1,78±0,37	1,95±0,34	0,062
Nrf2	1	0,011±0,004	0,05±0,008	0,05±0,011	0,000000001

Таблица 3 – Относительная экспрессия генов в печени птицы (n=10)

Гены	Группа				p-value
	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	
CAT	1	0,19±0,07	0,45±0,37	1,50±0,68	0,075
GSH-Gpx	1	0,11±0,03	0,12±0,01	1,17±0,50	0,008
HO-1	1	2,09±1,09	1,20±0,30	1,27±0,23	0,507
SOD	1	1,29±0,38	1,48±0,84	1,86±0,61	0,566
AvBD9	1	0,49±0,11	0,63±0,24	0,65±0,25	0,154
IL6	1	1,96±0,57	3,14±1,52	3,48±0,67	0,028
IL8	1	1,78±0,72	1,76±1,06	3,05±0,99	0,216
Nrf2	1	0,47±0,35	0,04±0,01	0,28±0,11	0,005

Таблица 4 – Корреляции между показателями относительной экспрессии генов АОС и иммунитета в отростках слепого кишечника и интенсивностью роста птицы (n=40)

Показатель	ССП	Гены антиоксидантной защиты и иммунитета							
		<i>CAT</i>	<i>GSH-Px</i>	<i>HO-1</i>	<i>SOD</i>	<i>AvBD-9</i>	<i>IL6</i>	<i>IL8</i>	<i>Nrf2</i>
ССП	1,000	-0,810	0,818	0,402	-0,326	0,983	0,543	0,459	0,350
<i>CAT</i>	-0,810	1,000	-0,670	-0,315	0,541	-0,694	-0,448	-0,304	-0,585
<i>GSH-Px</i>	0,818	-0,670	1,000	-0,198	-0,744	0,770	-0,039	-0,132	0,744
<i>HO-1</i>	0,402	-0,315	-0,198	1,000	0,627	0,448	0,987	0,993	-0,585
<i>SOD</i>	-0,326	0,541	-0,744	0,627	1,000	-0,193	0,504	0,626	-0,998
<i>AvBD-9</i>	0,983	-0,694	0,770	0,448	-0,193	1,000	0,577	0,520	0,211
<i>IL6</i>	0,543	-0,448	-0,039	0,987	0,504	0,577	1,000	0,987	-0,460
<i>IL8</i>	0,459	-0,304	-0,132	0,993	0,626	0,520	0,987	1,000	-0,589
<i>Nrf2</i>	0,350	-0,585	0,744	-0,585	-0,998	0,211	-0,460	-0,589	1,000

Таблица 5 – Корреляции между показателями относительной экспрессии генов АОС и иммунитета в тканях печени и интенсивностью роста птицы (n=40)

Показатель	ССП	Гены антиоксидантной защиты и иммунитета							
		<i>CAT</i>	<i>GSH-Px</i>	<i>HO-1</i>	<i>SOD</i>	<i>AvBD-9</i>	<i>IL6</i>	<i>IL8</i>	<i>Nrf2</i>
ССП	1,000	0,980	0,930	-0,763	0,379	0,568	0,225	0,394	0,165
<i>CAT</i>	0,980	1,000	0,956	-0,621	0,446	0,466	0,244	0,502	0,171
<i>GSH-Px</i>	0,930	0,956	1,000	-0,585	0,193	0,621	-0,044	0,293	0,449
<i>HO-1</i>	-0,763	-0,621	-0,585	1,000	0,017	-0,782	-0,020	0,127	-0,174
<i>SOD</i>	0,379	0,446	0,193	0,017	1,000	-0,534	0,948	0,970	-0,755
<i>AvBD-9</i>	0,568	0,466	0,621	-0,782	-0,534	1,000	-0,587	-0,529	0,745
<i>IL6</i>	0,225	0,244	-0,044	-0,020	0,948	-0,587	1,000	0,847	-0,910
<i>IL8</i>	0,394	0,502	0,293	0,127	0,970	-0,529	0,847	1,000	-0,611
<i>Nrf2</i>	0,165	0,171	0,449	-0,174	-0,755	0,745	-0,910	-0,611	1,000

Название гена	Фактор					
	«Группа»		«Пол»		«Группа +пол»	
	R ²	p	R ²	p	R ²	p
Ткани слепых отделов кишечника						
<i>CAT</i>	1,1	0,346	1,4	0,504	7,1	0,726
<i>GSH-Px</i>	66,5	0,00000003	2,6	0,965	66,6	0,0000002
<i>HO-1</i>	17,8	0,018	2,6	0,998	10,0	0,167
<i>SOD</i>	10,8	0,069	1,8	0,578	8,0	0,207
<i>AvBD-9</i>	34,2	0,0004	1,1	0,456	30,8	0,007
<i>IL6</i>	12,8	0,048	2,6	0,926	7,3	0,226
<i>IL8</i>	11,4	0,062	2,0	0,641	0,6	0,429
<i>Nrf2</i>	99,7	0,00000001	1,2	0,461	99,7	0,00000001
Ткани печени						
<i>CAT</i>	0,10	0,075	1,6	0,54	4,0	0,315
<i>GSH-Px</i>	21,7	0,008	2,5	0,75	13,5	0,108
<i>HO-1</i>	1,6	0,508	2,5	0,80	12,5	0,123
<i>SOD</i>	2,4	0,565	0,8	0,26	1,3	0,40
<i>AvBD-9</i>	6,2	0,154	1,2	0,46	3,1	0,567
<i>IL6</i>	15,5	0,028	2,6	0,95	21,5	0,035
<i>IL8</i>	4,1	0,216	5,0	0,95	6,6	0,243
<i>Nrf2</i>	23,9	0,005	2,1	0,18	24,8	0,020

Транскрипционный фактор *Nrf2* выполняет центральную роль в защите клеток от окислительного стресса, выступая ключевым регулятором антиоксидантного ответа. В нормальных условиях он связывается с ингибитором *Keap1* в цитоплазме, что приводит к его деградации. Однако при повышении уровня активных форм кислорода *Nrf2* высвобождается, мигрирует в ядро и активирует экспрессию генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, детоксицирующие белки и факторы, нейтрализующие электрофильные соединения. Помимо этого, *Nrf2* взаимодействует с сигнальными путями, влияющими на воспаление и иммунную толерантность [21]. В текущем исследовании выявлено снижение экспрессии *Nrf2* в тканях печени и отростках слепого кишечника у всех групп птиц по сравнению с контрольной группой. Это соответствует данным о том, что окислительный стресс может подавлять экспрессию *Nrf2* в тканях животных [22, 23]. Наиболее выраженное подавление активности *Nrf2* наблюдается в слепых отростках цыплят-бройлеров. Добавление ДКВЕС вызвало увеличение экспрессии *Nrf2* в тканях в

несколько раз, однако полного восстановления до уровня контрольной группы не происходит.

Поскольку в стрессовых условиях мы наблюдаем снижение экспрессии *Nrf2*, то неудивительно, что это повлекло за собой также снижение экспрессии глутатионпероксидазы. Интересно, что в 4-й опытной группе, получавшей комплексную добавку с первого дня эксперимента, наблюдалось увеличение экспрессии *GSH-Gpx* во всех тканях по сравнению другими опытными группами. Похожие данные получены в работе коллектива авторов, где введение дексаметазона петухам вызывало снижение активности *GSH-Gpx* в печени, а дополнительное введение витаминов С и Е (по отдельности и в комбинации) стимулировало экспрессию этого фермента [24]. Хотя мы не обнаружили статистически достоверных изменений между группами по экспрессии каталазы и супероксиддисмутазы, мы отмечаем положительную корреляцию между активностью каталазы в печени и среднесуточным приростом.

Интерлейкин-6 (*IL-6*) – провоспалительный цитокин, выполняющий ключе-

вую роль в регуляции системного и локального воспаления через модуляцию уровней других провоспалительных медиаторов, таких как IL-8, участвующих в процессах заживления ран, а также за счет стимуляции пролиферации и дифференцировки лейкоцитов [25]. В нашем исследовании стресс в сочетании с включением ДКВЕС в рацион вызвало многократное увеличение экспрессии IL-6 в тканях всех опытных группах (кроме 2-й) по сравнению с контролем, с наиболее выраженной активностью в тканях печени. Полученные данные согласуются с литературными данными, где сообщается о повышении уровня IL-6 как при хроническом, так и остром тепловом стрессе [26], который, в свою очередь, может быть индуцирован повышенной плотностью содержания птиц. Одним из возможных механизмов усиленной выработки цитокинов, наблюдаемой в эксперименте, может быть дефицит транскрипционного фактора *Nrf2*, известного своей ролью в подавлении провоспалительных сигналов [27]. Противоречия с ранее опубликованными результатами, где витамины С и Е снижали экспрессию IL-6 у бройлеров и крыс в условиях стресса [28, 29], вероятно, связаны с избирательным действием антиоксидантов, зависящим от типа стрессора, генетических особенностей объекта и специфики в дозировке применяемых добавок [30]. Также ожидалось, что используемый дигидрокверцетин в комплексной добавке может оказывать тормозящее влияние на синтез провоспалительных цитокинов, поскольку для различных групп флавоноидов показана реализация подобного механизма [25].

Таким образом, мы наблюдаем активацию иммунных функций у всех опытных групп, и наши результаты подчеркивает необходимость дальнейшего изучения выявленных закономерностей, включая анализ молекулярных механизмов регуляции IL-6 в контексте комбинированного воздействия пищевых факторов и стрессовых условий.

В нашем исследовании выявлено по-

вышение экспрессии *HO-1* в слепых отростках бройлеров во всех опытных группах по сравнению с контрольной, причём максимальный уровень отмечен в 4-й опытной группе. Известно, что индукция гемоксигеназы-1 может происходить вследствие воздействия стресса [31], и желудочно-кишечном тракте *HO-1* транскрипционно активируется в ответ на окислительный стресс, прекондиционирование и острое воспаление [32]. Данный фермент участвует в катаболизме гема с образованием биливердина, свободного железа (Fe^{2+}) и монооксида углерода и способствует снижению окислительных процессов, подавляет синтез провоспалительных цитокинов и стимулирует выработку противовоспалительных факторов [31]. Возможно, в текущем исследовании индукция *HO-1* обусловлена активностью интерлейкина-6, поскольку он может участвовать в сигнальном пути *JAK/STAT*, индуцируя экспрессию гемоксигеназы-1 [33]. Интересно, что в эксперименте с мышами, получавшими рутин и гесперидин (флавоноиды), наблюдалось повышение экспрессии *HO-1* в печени без существенного влияния на активацию *Nrf2* [34].

Экспрессия β -дефензинов в кишечнике индуцируется провоспалительными цитокинами и микроорганизмами [35]. Антибактериальный пептид *AvBD9* обладает широким спектром биологической активности, включая регуляцию иммунных процессов, и в норме слабо экспрессируется [36]. Наша работа выявила новые аспекты регуляции *AvBD9*: при повышенной плотности посадки наблюдалось значительное снижение его экспрессии, за исключением группы, получавшей добавку ДКВЕС с первого дня эксперимента. Сообщается о взаимосвязи между сниженной экспрессией *AvBD9* и тепловым ударом у птиц, и более высокая его активность, видимо, помогает повышать сопротивляемость к последствиям теплового стресса [37]. Мы также отмечаем корреляцию между экспрессией *AvBD9* и среднесуточным приростом в слепом кишечнике бройлеров, что может говорить о

важности активности данного гена в кишечнике исследуемого кросса для продуктивности.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенное исследование показало, что моделируемый стресс вызывает снижение активности транскрипционного фактора *Nrf2* и *GSH-Gpx* в тканях слепого кишечника и печени цыплят-бройлеров, а также снижение *AvBD9* в кишечнике, что свидетельствует о подавлении естественных защитных механизмов организма птицы. В то же время, профилактическое включение в рацион комплексной добавки ДКВЕС, состоящей из дигидрокверцетина, витаминов Е и С, до наступления стрессовых условий, смягчает негативное воздействие стресса на организм птицы. Это проявляется в увеличении активности некоторых генов антиоксидантной защиты (*Nrf2*, *GSH-Gpx*, *HO-1*), а также наблюдается активация иммунного ответа за счет стимуляции определенных генов (*AvBD9*, *IL-6*). Полученные результаты подчеркивают перспективность использования комплекса ДКВЕС для повышения устойчивости птиц к стрессовым факторам и требуют дальнейшего изучения молекулярных механизмов его действия.

GENE EXPRESSION OF ANTIOXIDANT DEFENSE AND IMMUNITY IN BROILER CHICKEN TISSUES UNDER THE INFLUENCE OF AN ADAPTOGEN COMPLEX

Vyuchnaya P.S.* – Junior Researcher, Laboratory of Fundamental Principles of Nutrition of Farm Animals and Fish (ORCID 0009-0008-4669-2395); **Lakhonin P.D.** – Junior Researcher, Laboratory of Fundamental Principles of Nutrition of Farm Animals and Fish (ORCID 0000-0002-7354-0337); **Bardukov N.V.** – Researcher, Laboratory of Genetic Technologies in Agro- and Aquatic Farming (ORCID 0000-0002-5497-2409); **Bogolubova N.V.** – Doctor of Biological Sci., Leading Researcher, Head of the Department of Physiology and Biochemistry of Farm Animals (ORCID 0000-0002-0520-7022).

Federal Research Center for Animal Husbandry named after L.K. Ernst

*vyuchnaya@gmail.com

Financing: the research was supported by the Russian Science Foundation under project 22-16-00024 P.

ABSTRACT

Modern poultry farming technologies are often associated with stress factors that disrupt the balance between free radical production and antioxidant defense, potentially leading to oxidative stress. Consequently, maintaining optimal immune system function and enhancing antioxidant defense, particularly through exogenous antioxidants, is critical for poultry health and adaptation. This study aimed to evaluate the impact of the DHQEC complex (dihydroquercetin, vitamins E and C) on the expression of antioxidant and immune-related genes in the liver and intestinal tissues of broiler chickens under simulated stress. The experiment was carried out on broiler chickens of the «Smena-9» cross (n=40, N=160). A control group and three experimental groups were formed, which were subjected to stress (increase in stocking density by 10%). In addition to the basal diet, the third (from the 21st day of the experiment) and fourth (from the 1st day of the experiment) groups were supplemented with DHQEC: dihydroquercetin (32 mg/kg feed), vitamin E (10 mg/kg feed), and vitamin C (35 mg/kg feed). Real-time PCR was used to analyze the expression of *Nrf2*, *GSH-Gpx*, *CAT*, *SOD*, *HO-1*, *AvBD9*, *IL-6*, and *IL-8* genes in liver and cecum. Results demonstrated that simulated stress reduced the expression of *Nrf2* and *GSH-Gpx* in intestinal and liver tissues, along with decreased *AvBD9* expression, indicating suppressed defense mechanisms. Prophylactic DHQEC administration mitigated these effects by upregulating *Nrf2*, *GSH-Gpx*, and *HO-1* expression, while stimulating *AvBD9* and *IL-6*. A positive correlation was observed between intestinal *AvBD9* expression and average daily weight gain. These findings highlight the potential of the DHQEC complex to enhance stress resilience and productivity in broilers.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles / J. Flieger, W. Flieger, J. Baj, R. Maciejewski // *Materials*. – 2021. – Vol. 14. – P. 4135.
2. Antioxidant Defence Systems and Oxidative Stress in Poultry Biology: An Update / P. F. Surai, I. I. Kochish, V. I. Fisinin, M. T. Kidd // *Antioxidants*. – 2019. – Vol. 8. – No. 7. – P. 235.
3. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants / K. Jomova, S. Y. Alomar, S. H. Alwasel [et al.] // *Arch Toxicol*. – 2024. – Vol. 98. – No. 5. – P. 1323–1367.
4. Surai, P. F. Antioxidant Systems in Poultry Biology: Superoxide Dismutase / P. F. Surai // *J Anim Res Nutr*. – 2015. – Vol. 1. – No. 1. – P. 8.
5. Oxidative stress in poultry production / O. E. Oke, O.A. Akosile, A.I. Oni [et al.] // *Poult Sci*. – 2024. – Vol. 103. No. 9. – P. 104003.
6. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор в развитии типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии / П. В. Глыбочко, В. М. Попков, Н. П. Чеснокова [и др.]. – Саратов: Издательский Дом "Академия Естествознания", 2012. – 275 с.
7. Сурай, П. Стрессы в птицеводстве / П. Сурай // *Животноводство России*. – 2015. – № S1. – С. 30-31.
8. So-In, C. The effects of mulberry (*Morus alba* Linn.) leaf supplementation on growth performance, blood parameter, and antioxidant status of broiler chickens under high stocking density / C. So-In, N. Sunthamala // *Veterinary world*. – 2022. – Vol. 15. – № 11. – P. 2715-2724.
9. Antioxidative and anti-inflammatory effects of vitamin C on the liver of laying hens under chronic heat stress / J. Du, Y. Shi, C. Zhou [et al.] // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2022. – Vol. 9. – P. 1052553.
10. Xu, D. L., Xu, M. M., Wang, D. H. Effect of temperature on antioxidant defense and innate immunity in Brandt's voles / D. L. Xu, M. M. Xu, D. H. Wang // *Zool Res*. – 2019. – Vol. 40. – No. 4. – P. 305-316.
11. Centennial Review: Effects of vitamins A, D, E, and C on the chicken immune system / B. Shojadoost, A. Yitbarek, M. Alizadeh [et al.] // *Poult Sci*. – 2021. – Vol. 100. – No. 4. – P. 100930.
12. Figueroa-Méndez, R., Rivas-Arancibia, S. Vitamin C in Health and Disease: Its Role in the Metabolism of Cells and Redox State in the Brain / R. Figueroa-Méndez, S. Rivas-Arancibia // *Frontiers in Physiology*. – 2015. – Vol. 6.
13. Engwa, G. A. Free Radicals and the Role of Plant Phytochemicals as Antioxidants Against Oxidative Stress-Related Diseases / G. A. Engwa // *Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*. InTech, 2018.
14. Botanical Flavonoids: Efficacy, Absorption, Metabolism and Advanced Pharmaceutical Technology for Improving Bioavailability / L. Hu, Y. Luo, J. Yang, C. Cheng // *Molecules*. – 2025. – Vol. 30. – No. 5. – P. 1184.
15. Сравнительная оценка реакционной способности кверцетина и дигидрокверцетина по отношению к пероксильным радикалам / И. Г. Конкина, С. А. Грабовский, Ю. И. Муринов, Н. Н. Кабальнова // *Химия растительного сырья*. – 2011. – № 3. – С. 207-208.
16. Ioannou, I., Mohame, G. Biological Activities and Effects of Food Processing on Flavonoids as Phenolic Antioxidants / I. Ioannou, G. Mohame // *Advances in Applied Biotechnology*. InTech, 2012.
17. Биохимический статус и продуктивные качества свиней (*Sus scrofa domestica*) при моделировании стресса и его коррекции / Р. В. Некрасов, Н. В. Боголюбова, К. С. Остренко [и др.] // *Сельскохозяйственная биология*. – 2023. – Т. 58, № 4. – С. 638-659.
18. Руководство по работе с птицей мясного кросса «Смена 9» с аутоксексной материнской формой / Д.Н. Ефимов, А.В. Егорова, Ж.В. Емануйлова и [др.]. – Сер-

- гиев Посад: ФНЦ «ВНИТИП» РАН, 2020. – 95 С.
- 19.Инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и перерабатывающих предприятиях. Москва, 1990.
- 20.Livak, K. J., Schmittgen, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method / K. J. Livak, T. D. Schmittgen // *Methods*. – 2001. – Vol. 25. – No. 4. – P. 402–408.
- 21.Sajadimajd, S., Khazaei, M. Oxidative Stress and Cancer: The Role of Nrf2 / S. Sajadimajd, M. Khazaei // *Curr Cancer Drug Targets*. – 2018. – Vol. 18. – No. 6. – P.538–557.
- 22.Unraveling the Nrf2-ARE Signaling Pathway in the DF-1 Chicken Fibroblast Cell Line: Insights into T-2 Toxin-Induced Oxidative Stress Regulation / S. Gao, K. Wang, K. Xiong [et al.] // *Toxins*. – 2023. – Vol. 15. – No. 11. – P. 627.
- 23.Resveratrol inhibits oxidative damage in lungs of heat-stressed broilers by activating Nrf2 signaling pathway and autophagy / M. H. Lu, K. N. Ding, S. S. Liang [et al.] // *Eco-toxicology and Environmental Safety*. – 2023. – Vol. 258. – P. 114949.
- 24.Vitamin E and vitamin C supplementation improves antioxidant status and immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene / N. Min, Z. Y. Niu, T. T. Sun // *Poultry Science*. – 2018. – Vol. 97. – No. 4. – P. 1238–1244.
- 25.Азарова, О. В., Галактионова, Л. П. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия / О.В. Азарова, Л.П. Галактионова // *Химия растительного сырья*. – 2012. - № 4. С.61–78.
- 26.Al-Zghoul, M. B., Saleh, K. M., Ababneh, M. M. K. Effects of pre-hatch thermal manipulation and post-hatch acute heat stress on the mRNA expression of interleukin-6 and genes involved in its induction pathways in 2 broiler chicken breeds / M. B. Al-Zghoul, K. M. Saleh, M. M. K. Ababneh // *Poultry Science*. – 2019. – Vol. 98. – No. 4. – P. 1805–1819.
- 27.Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress / I. Bellezza, I. Giambanco, A. Minelli, R. Donato // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. – 2018. – Vol. 1865. – No. 5. – P. 721–733.
- 28.Effects of Vitamin C or E on the Pro-inflammatory Cytokines, Heat Shock Protein 70 and Antioxidant Status in Broiler Chicks under Summer Conditions / I. S. Jang, Y. H. Ko, Y. S. Moon, S. H. Sohn // *Asian-Australas J Anim Sci*. – 2014. – Vol. 27. – No. 5. – P. 749–56.
- 29.Effects of cyclic heat stress or vitamin C supplementation during cyclic heat stress on HSP70, inflammatory cytokines, and the antioxidant defense system in Sprague Dawley rats / S. H. Yun, Y. S. Moon, S. H. Sohn, I. S. Jang // *Experimental animals*. – 2012. – Vol. 61. – No. 5. – P. 543–553.
- 30.Differential splenic cytokine responses to dietary immune modulation by diverse chicken lines / S. B. Redmond, R. M. Tell, D. Coble [et al.] // *Poultry science*. – 2010. – Vol. 89. – No. 8. – P. 1635–1641.
- 31.Бивалькевич, Н. В., Караман, Ю. К. Взаимосвязь экспрессии гемоксигеназы-1 и активности апоптотических процессов в печени крыс при неалкогольном стеатогепатите / Н. В. Бивалькевич, Ю. К. Караман // *Тихоокеанский медицинский журнал*. – 2013. - № 3. – С. 25–28.
- 32.Heme oxygenase-1: a novel therapeutic target for gastrointestinal diseases / Y. Naito, T. Takagi, K. Uchiyama, T. Yoshikawa // *J Clin Biochem Nutr*. – 2011. – Vol. 48. – No. 2. – P. 126–133.
- 33.Human Heme Oxygenase-1 Induced by Interleukin-6 via JAK/STAT3 Pathways Is a Tumor Suppressor Gene in Hepatoma Cells / K. C. Chiang, K. S. Chang, S. Y. Hsu [et al.] // *Antioxidants*. – 2020. – Vol. 9. – No. 3. – P. 251.
- 34.Влияние рутина и гесперидина на экспрессию гена Nrf2 и активность гемоксигеназы-1 и NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы при их раздельном и совместном действии / А. С. Балакина, Н. В. Трусов, Л. И. Авренева [и др.] // Влияние рутина и гесперидина на экспрессию гена Nrf2 и активность гемок-

сигеназы-1 и nad(p)H-хиноноксидоредуктазы при их раздельном и совместном действии // Вопросы питания. – 2016 – № 3. – С. 18-26.

35. Микрофлора кишечника кур и экспрессия связанных с иммунитетом генов под влиянием пробиотической и пребиотической кормовых добавок / И. И. Кочиш, О. В. Мясникова, В. В. Мартынов, В. И. Смоленский // Сельскохозяйственная биология. – 2020. – Т. 55. – № 2. – С. 315-327.

36. Construction of Recombinant *Pichia pastoris* Carrying a Constitutive AvBD9 Gene and Analysis of Its Activity / J. Tu, K. Qi, T. Xue [et al.] // J. Microbiol. Biotechnol. – 2015. – Vol. 25. – P. 2082–2089.

37. Transcriptome analysis of multiple tissues reveals the potential mechanism of death under acute heat stress in chicken / J. Nan, H. Yang, L. Rong [et al.] // BMC Genomics. – 2023. – Vol. 24. – P. 459.

REFERENCES

1. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles / J. Flieger, W. Flieger, J. Baj, R. Maciejewski // Materials. – 2021. – Vol. 14. – P. 4135.

2. Antioxidant Defence Systems and Oxidative Stress in Poultry Biology: An Update / P. F. Surai, I. I. Kochish, V. I. Fisinin, M. T. Kidd // Antioxidants. – 2019. – Vol. 8. – No. 7. – P. 235.

3. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants / K. Jomova, S. Y. Alomar, S. H. Alwasel [et al.] // Arch Toxicol. – 2024. – Vol. 98. – No. 5. – P. 1323–1367.

4. Surai, P. F. Antioxidant Systems in Poultry Biology: Superoxide Dismutase / P. F. Surai // J Anim Res Nutr. – 2015. – Vol. 1. – No. 1. – P. 8.

5. Oxidative stress in poultry production / O. E. Oke, O.A. Akosile, A.I. Oni [et al.] // Poult Sci. – 2024. – Vol. 103. No. 9. – P. 104003.

6. Activation of lipoperoxidation as a leading pathogenetic factor in the development of typical pathological processes and diseases of various etiologies / P. V. Glybochko, V. M. Popkov, N. P. Chesnokova [et al.]. – Saratov: Publishing House "Academy of Natural Sciences", 2012. – 275 p. (In Russ.).

7. Surai, P. Stresses in poultry farming / P. Surai // Animal husbandry of Russia. – 2015. – No. S1. – P. 30-31. (In Russ.).

8. So-In, C. The effects of mulberry (*Morus alba* Linn.) leaf supplementation on growth performance, blood parameter, and antioxidant status of broiler chickens under high stocking density / C. So-In, N. Sunthamala // Veterinary world. – 2022. – Vol. 15. – № 11. – P. 2715-2724.

9. Antioxidative and anti-inflammatory effects of vitamin C on the liver of laying hens under chronic heat stress / J. Du, Y. Shi, C. Zhou [et al.] // Frontiers in Veterinary Science. – 2022. – Vol. 9. – P. 1052553.

10. Xu, D. L., Xu, M. M., Wang, D. H. Effect of temperature on antioxidant defense and innate immunity in Brandt's voles / D. L. Xu, M. M. Xu, D. H. Wang // Zool Res. – 2019. – Vol. 40. – No. 4. – P. 305-316.

11. Centennial Review: Effects of vitamins A, D, E, and C on the chicken immune system / B. Shojadoost, A. Yitbarek, M. Alizadeh [et al.] // Poult Sci. – 2021. – Vol. 100. – No. 4. – P. 100930.

12. Figueroa-Méndez, R., Rivas-Arancibia, S. Vitamin C in Health and Disease: Its Role in the Metabolism of Cells and Redox State in the Brain / R. Figueroa-Méndez, S. Rivas-Arancibia // Frontiers in Physiology. – 2015. – Vol. 6.

13. Engwa, G. A. Free Radicals and the Role of Plant Phytochemicals as Antioxidants Against Oxidative Stress-Related Diseases / G. A. Engwa // Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention. InTech, 2018.

14. Botanical Flavonoids: Efficacy, Absorption, Metabolism and Advanced Pharmaceutical Technology for Improving Bioavailability / L. Hu, Y. Luo, J. Yang, C. Cheng // Molecules. – 2025. – Vol. 30. – No. 5. – P. 1184.

15. Comparative assessment of the reactivity

- of quercetin and dihydroquercetin to peroxy radicals / I. G. Konkina, S. A. Grabovsky, Yu. I. Murinov, N. N. Kabalnova // Chemistry of vegetable raw materials. - 2011. - No. 3. - P. 207-208. (In Russ.).
16. Ioannou, I., Mohame, G. Biological Activities and Effects of Food Processing on Flavonoids as Phenolic Antioxidants / I. Ioannou, G. Mohame // Advances in Applied Biotechnology. InTech, 2012.
17. Biochemical status and productive qualities of pigs (*Sus scrofa domestica*) in stress modeling and correction / R. V. Nekrasov, N. V. Bogolyubova, K. S. Ostrenko [et al.] // Agricultural Biology. - 2023. - Vol. 58, No. 4. - P. 638-659. (In Russ.).
18. Guidelines for working with meat-cross poultry "Smena 9" with an autosex maternal form / D.N. Efimov, A.V. Egorova, Zh.V. Emanuilova and [others]. - Sergiev Posad: VNITIP Scientific Research Center of the Russian Academy of Sciences, 2020. - 95 p. (In Russ.).
19. Instructions on sanitary and microbiological control of carcasses, poultry meat, poultry products, eggs and egg products at poultry and processing enterprises. Moscow, 1990. (In Russ.).
20. Livak, K. J., Schmittgen, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method / K. J. Livak, T. D. Schmittgen // Methods. - 2001. - Vol. 25. - No. 4. - P. 402-408.
21. Sajadimajd, S., Khazaei, M. Oxidative Stress and Cancer: The Role of Nrf2 / S. Sajadimajd, M. Khazaei // Curr Cancer Drug Targets. - 2018. - Vol. 18. - No. 6. - P. 538-557.
22. Unraveling the Nrf2-ARE Signaling Pathway in the DF-1 Chicken Fibroblast Cell Line: Insights into T-2 Toxin-Induced Oxidative Stress Regulation / S. Gao, K. Wang, K. Xiong [et al.] // Toxins. - 2023. - Vol. 15. - No. 11. - P. 627.
23. Resveratrol inhibits oxidative damage in lungs of heat-stressed broilers by activating Nrf2 signaling pathway and autophagy / M. H. Lu, K. N. Ding, S. S. Liang [et al.] // Ecotoxicology and Environmental Safety. - 2023. - Vol. 258. - P. 114949.
24. Vitamin E and vitamin C supplementation improves antioxidant status and immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene / N. Min, Z. Y. Niu, T. T. Sun // Poultry Science. - 2018. - Vol. 97. - No. 4. - P. 1238-1244.
25. Азарова, О. В., Галактионова, Л. П. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия / О.В. Азарова, Л.П. Галактионова // Химия растительного сырья. - 2012. - № 4. С.61-78.
26. Al-Zghoul, M. B., Saleh, K. M., Ababneh, M. M. K. Effects of pre-hatch thermal manipulation and post-hatch acute heat stress on the mRNA expression of interleukin-6 and genes involved in its induction pathways in 2 broiler chicken breeds / M. B. Al-Zghoul, K. M. Saleh, M. M. K. Ababneh // Poultry Science. - 2019. - Vol. 98. - No. 4. - P. 1805-1819.
27. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress / I. Bellezza, I. Giambanco, A. Minelli, R. Donato // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research. - 2018. - Vol. 1865. - No. 5. - P. 721-733.
28. Effects of Vitamin C or E on the Pro-inflammatory Cytokines, Heat Shock Protein 70 and Antioxidant Status in Broiler Chicks under Summer Conditions / I. S. Jang, Y. H. Ko, Y. S. Moon, S. H. Sohn // Asian-Australas J Anim Sci. - 2014. - Vol. 27. - No. 5. - P. 749-56.
29. Effects of cyclic heat stress or vitamin C supplementation during cyclic heat stress on HSP70, inflammatory cytokines, and the antioxidant defense system in Sprague Dawley rats / S. H. Yun, Y. S. Moon, S. H. Sohn, I. S. Jang // Experimental animals. - 2012. - Vol. 61. - No. 5. - P. 543-553.
30. Differential splenic cytokine responses to dietary immune modulation by diverse chicken lines / S. B. Redmond, R. M. Tell, D. Coble [et al.] // Poultry science. - 2010. - Vol. 89. - No. 8. - P. 1635-1641.
31. Bivalkevich, N. V., Karaman, Yu. K. The relationship between hemoxygenase-1 expression and the activity of apoptotic processes in the rat liver in nonalcoholic steatohepatitis / N. V. Bivalkevich, Yu. K. Kara-

- man // Pacific Medical Journal. – 2013. - № 3. – P. 25-28. (In Russ).
32. Heme oxygenase-1: a novel therapeutic target for gastrointestinal diseases / Y. Naito, T. Takagi, K. Uchiyama, T. Yoshikawa // J Clin Biochem Nutr. – 2011. – Vol. 48. – No. 2. – P. 126–133.
33. Human Heme Oxygenase-1 Induced by Interleukin-6 via JAK/STAT3 Pathways Is a Tumor Suppressor Gene in Hepatoma Cells / K. C. Chiang, K. S. Chang, S. Y. Hsu [et al.] // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9. – No. 3. – P. 251.
34. The effect of rutin and hesperidin on the expression of the Nrf2 gene and the activity of hemoxygenase-1 and NAD(P)H-quinone oxidoreductase under their separate and combined action / A. S. Balakina, N. V. Trusov, L. I. Avreneva [et al.] // Nutrition issues. - 2016 – No. 3. – pp. 18-26. (In Russ.).
35. The intestinal microflora of chickens and the expression of immunity-related genes under the influence of probiotic and prebiotic feed additives / I. I. Kochish, O. V. Myasnikova, V. V. Martynov, V. I. Smolensky // Agricultural Biology. – 2020. – Vol. 55. – No. 2. – P. 315-327. (In Russ).
36. Construction of Recombinant *Pichia pastoris* Carrying a Constitutive AvBD9 Gene and Analysis of Its Activity / J. Tu, K. Qi, T. Xue [et al.] // J. Microbiol. Biotechnol. – 2015. – Vol. 25. – P. 2082–2089.
37. Transcriptome analysis of multiple tissues reveals the potential mechanism of death under acute heat stress in chicken / J. Nan, H. Yang, L. Rong [et al.] // BMC Genomics. – 2023. – Vol. 24. – P. 459.

УДК: 636.034:636.082

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.190

АКТУАЛЬНОСТЬ ПОИСКА МАРКЕРОВ И ИНДИКАТОРОВ ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (ОБЗОР)

Сафина Н.Ю.* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1184-3188); Муханина Е.Н. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9299-2104); Шакиров Ш.К. – д-р с.-х. наук, проф., гл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-3362-0463); Гайнутдинова Э.Р. – асп., науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2970-1500)

Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
ФИЦ КазНЦ РАН

*natysafina@gmail.com

Ключевые слова: крупный рогатый скот, тепловой стресс, биомаркер, продуктивность, удой, воспроизводство, термотолерантность, ген-маркер.

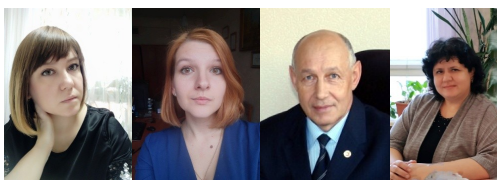
Key words: cattle, heat stress, biomarker, productivity, yield, reproduction, thermotolerance, gene-marker.

Финансирование: Работа выполнена за счет гранта Академии наук Республики Татарстан, предоставленного молодым кандидатам наук (постдокторантам) с целью защиты докторской диссертации, выполнения научно-исследовательских работ, а также выполнения трудовых функций в научных и образовательных организациях Республики Татарстан в рамках Государственной программы Республики Татарстан «Научно-технологическое развитие Республики Татарстан (Соглашение от 16.12.2024 № 78/2024-ПД).

Поступила: 30.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Эффективность животноводства, особенно молочного, в условиях глобального потепления определяется комплексом факторов: климатическими условиями (тепловой стресс), кормовой базой, физиологическим состоянием животных и их генетической адаптивностью. Повышенные температуры провоцируют у скота комплексные нарушения, включая метаболические расстройства и снижение продуктивности. На фоне климатических изменений влияние теплового стресса на крупный рогатый скот представляет серьезную проблему для животноводства. Цель обзора: рассмотреть признаки адаптивных качеств и термотолерантности крупного рогатого скота. Исследования отечественных и зарубежных авторов показывают, что при превышении температурно-влажностного индекса (ТВИ) выше порогового значения (> 66) у животных наблюдаются физиологические нарушения (рост ректальной температуры, учащение дыхания и др.), поведенческие изменения (снижение активности, уменьшение потребления корма и др.), биохимические сдвиги (повышение кортизола, рост кетоновых тел и др.), снижение продуктивности

(падение удоев, снижение содержания массовой доли жира и белка, изменение жирнокислотного состава, сокращение приростов живой массы), ухудшение репродуктивных функций (снижение оплодотворяемости, и ухудшение подвижности сперматозоиды). Исследования генетических показателей выявили ключевые маркеры термотолерантности, включая гены белков и факторов теплового шока (HSP и HSF), антиоксидантных ферментов, гены иммунитета и метаболизма. Однако селекция осложняется антагонизмом между продуктивностью и устойчивостью к стрессу. Для минимизации последствий негативного воздействия теплового стресса рекомендуется контролировать микроклимат (вентиляция, охлаждение) в животноводческих помещениях, оптимизировать кормление (вводить добавки антиоксидантов и витаминов) и применять, наряду с методами традиционной селекции, генетический отбор с использованием GWAS-анализа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Эффективность животноводства, особенно молочного, в условиях глобального потепления определяется комплексом факторов: климатическими условиями (тепловой стресс), кормовой базой, физиологическим состоянием животных и их генетической адаптивностью. Повышенные температуры провоцируют у скота комплексные нарушения, включая метаболические расстройства и снижение продуктивности. Ключевое значение имеет селекция на устойчивость к стрессу с учётом генетических маркеров терморегуляции, а также внедрение технологий содержания и кормления, минимизирующих негативное воздействие жары [1].

Физиологические индикаторы теплового стресса (частота дыхания, ректальная температура, слюноотечение) характеризуются низкой наследуемостью и полигенной природой, контролируются множеством QTL (локусы количественных признаков) с минимальным индивидуальным эффектом. Это ограничивает эффективность традиционной селекции, требуя применения высокотехнологичных методов, таких как геномная селекция на основе SNP-профилей (однонуклеотидные полиморфизмы) или комбинированные фенотипические индексы, учитывающие устойчивость в реальных условиях содержания [2].

Цель обзора – рассмотреть признаки адаптивных качеств и термотолерантности крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Мониторинг литературных источни-

ков осуществлялся по российским и зарубежным базам цитирования с использованием ключевых слов, связанных с тепловым стрессом у крупного рогатого скота: крупный рогатый скот, тепловой стресс, биомаркер, продуктивность, удой, воспроизводство, термотолерантность, cattle, heat stress, biomarker, productivity, yield, reproduction, thermotolerance. Для анализа использовались материалы исследований, опубликованные в период с 1991 по 2025 годы. В обзоре обобщены современные данные о воздействии и оценке теплового стресса на крупный рогатый скот в условиях изменяющегося климата. Поиск проводился в международных и российских научных ресурсах. В итоговую выборку вошли 30 научных статей, отобранных по критериям релевантности: 24 публикации из зарубежных баз данных (PubMed, PubMed Central (PMC), Google Scholar, Web of Science) и 6 из российских источников (НЭБ eLibrary.ru и КиберЛенинка). Ключевые слова поиска включали термины, связанные с продуктивными, физиологическими, биохимическими и генетическими аспектами теплового стресса у сельскохозяйственных животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Известно, что температура является одним из важных факторов окружающей среды, оказывающих влияние на здоровье и продуктивность сельскохозяйственных животных. Повышение глобальной температуры в условиях изменяющегося климата, влекущее за собой негативное воздействие теплового стресса на популяции скота, вызывает беспокойство у ученых и сельхозтоваропроизводителей в

различных климатических регионах [3, 4]. Крупный рогатый скот реагирует на повышение ТВИ, объединяющего показатели температуры и относительной влажности воздуха [5], вследствие чего изменяются физиологические, биохимические и молекулярные процессы в организме [6].

$$\text{ТВИ} = (0,8 \times T_c) + [(OB / 100) \times (T_c - 14,4)] + 46,4, \text{ где}$$

T_c – температура сухого термометра, °С, OB – относительная влажность воздуха, %.

Снижение роста, продуктивности и репродуктивной эффективности у животных, подвергающихся тепловому стрессу, является результатом повышенного распределения энергии и питательных веществ в ответ на тепловой стресс [7]. Генетические механизмы термотолерантности требуют особого внимания [8].

Исследователями в качестве индикаторов термотолерантности крупного рогатого скота были предложены признаки, систематизированные по своему действию, проявляющиеся в период влияния теплового стресса:

1. Физиологические маркеры [9, 10]:

- повышаются температура тела и ректальная температура на 0,5–1,5°C при ТВИ >72, что свидетельствует о перегреве;

- возрастает частота дыхания с 30–40 до 60–100 дыхательных циклов в мин. из-за попыток организма усилить испарительное охлаждение;

- увеличивается частота сердцебиения на 15–30% (с 60–70 до 80–90 уд. /мин.), как реакция на стресс и гипоксию;

- усиливаются потоотделение и слюноотделение, но у крупного рогатого скота потоотделение менее эффективно, чем у других видов, что усугубляет тепловую нагрузку.

2. Поведенческие адаптации [4, 11]. Животные меняют поведение для минимизации тепловой нагрузки:

- снижается активность – коровы на 30–50% меньше двигаются, предпочитая лежать в тени;

- наблюдается поиск прохлады, стремление к вентиляции, поилкам

(водопое), затененным зонам;

- падает потребление корма на 10–25% из-за угнетения аппетита и смещения кровотока от ЖКТ к коже;

- учащается питье – потребление воды возрастает на 20–40% для компенсации потерь жидкости.

3. Биохимические сдвиги [6, 12-15]:

- повышаются показатели лактата и пирувата на 15–30% из-за гипоксии и перехода на анаэробный гликолиз;

- возрастает концентрация кетоновых тел (ацетон, β -гидроксмасляная кислота) на 20–50% вследствие усиленного липолиза;

- повышается уровень мочевины, общего билирубина, аспартатаминотрансферазы и креатинфосфокиназы на 10-25% из-за деградации мышечных белков и снижения функции почек;

- увеличивается значение кортизола в 1,5–2 раза, вызывая гормональный дисбаланс (упомянутый в контексте изменений), что дополнительно ухудшает самочувствие животных, снижает иммунитет, нарушает мобилизацию энергии, что может влиять на синтез молока, нарушение полового цикла и др.

- снижаются уровни Na^+ , K^+ , Cl^- из-за усиленного потоотделения, вследствие чего происходит электролитный дисбаланс.

4. Окислительный стресс [1, 16, 17]:

- ухудшается активность антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза) на 20–40%, что ведет к накоплению свободных радикалов.

5. Молочная и мясная продуктивность [3, 18-20]:

- падает удой на 10–30% при ТВИ >66;

- снижается массовая доля жира в молоке на 0,2–0,5% из-за нарушения липидного обмена;

- изменяется жирнокислотный состав молока и мяса;

- уменьшается массовая доля белка в молоке на 0,1–0,3%;

- возрастает количество соматических клеток в молоке на 15–50% из-за сниже-

ния иммунитета;

- сокращаются среднесуточные приросты живой массы до 35% из-за снижения потребления корма;

- ухудшаются морфологический состав туш, органолептические и технологические показатели мяса животных.

6. Репродуктивные нарушения [10, 21]:

- ухудшается качество спермы у быков – снижается подвижность и концентрация сперматозоидов;

- падает оплодотворяемость коров на 20–30% из-за угнетения функции яичников;

- увеличиваются ранние эмбриональные потери в 1,5–2 раза из-за гипертермии и гормонального дисбаланса.

Определение термоустойчивых животных остается сложной задачей из-за комплексного характера реакции на тепловой стресс, поскольку показатели устойчивости к тепловому воздействию имеют высокую вариабельность, умеренную наследуемость и мало изучены. Особую сложность представляет антагонистическая взаимосвязь между термотолерантностью и продуктивными признаками дойных коров [22, 23]. Это означает, что традиционная селекция, направленная на повышение продуктивности, приводит к снижению способности животного к адаптации и преодолению теплового стресса [24].

Современные молекулярно-генетические исследования выявили сложную систему генетической регуляции ответа на тепловой стресс [7, 25]. Следовательно, при отборе молочного скота, выращиваемого в условиях потепления климата, следует учитывать генетическую изменчивость толерантности к тепловому стрессу.

Под воздействием повышенных температур в совокупности с высокой влажностью происходит значительная перестройка экспрессии генов, затрагивающих несколько физиологических систем организма животных.

Активируются гены белков теплового шока (HSP) и их транскрипционных фак-

торов (HSF), которые защищают белки от денатурации [7, 8, 26], тогда как экспрессия генов холодового ответа, напротив, подавляется [27].

Параллельно наблюдается индукция антиоксидантных генов, что отражает попытку организма противостоять окислительному стрессу [17].

Важные изменения происходят в иммунной системе, наблюдается угнетение активности генов цитокинов, вследствие чего снижается иммунная защита при стрессе [28].

Не менее значительные трансформации установлены в метаболических путях. Подавляются липогенетические гены, коррелирующие с изменениями содержания жира в молоке и его жирнокислотного состава [18, 29], тогда как активация генов глюконеогенеза, отражает попытку организма компенсировать энергодифицит и перераспределить ресурсы [30].

Для изучения генетических основ термотолерантности в современной селекции применяются передовые молекулярно-генетические подходы. Метод полногеномного ассоциативного анализа (GWAS) позволяет выявлять значимые SNP-маркеры, ассоциированные с устойчивостью к тепловому стрессу, и идентифицировать соответствующие локусы количественных признаков (QTL) [9, 18, 23]. Ученые в странах с субтропическим и тропическим жарким климатом (Индия, Таиланд, Бразилия, страны Африки и проч.) уже давно проводят исследования по поиску генов-маркеров у крупного рогатого скота, в основном молочного направления продуктивности, способного переносить повышенные температуры без потери продуктивных качеств [31–33]. Анализ данных проведенных научно-хозяйственных опытов указывает на то, что коровы аборигенных пород Мутуру, Н'Дама, Белый фулани и Зебу, а также Сахивал, Белый лампхун, Турецкий серый и др. обладают лучшей регуляцией реакции на тепловой стресс, чем помесный и чистокровный голштинский скот. [34–36]. В южных регионах, по сравнению с северными, зафиксировано боль-

шее количество SNP в локусах генов термотолерантности у различного поголовья животных, а также наблюдается увеличение частоты встречаемости их аллелей и генотипов. Многие из этих популяции являются мономорфными, что делает их привлекательными для использования в программах разведения по улучшению адаптивных качеств молочного скота.

Дополнительную информацию предоставляет ландшафтная геномика, которая анализирует адаптивный полиморфизм в контексте конкретных условий среды [37]. Эти методы открывают новые возможности для разработки эффективных программ селекции, учитывающих как продуктивные качества, так и стрессоустойчивость животных.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенный анализ показал, что тепловой стресс и его последствия вызывают комплекс описанных нарушений, проявляющихся на различных уровнях, оказывают значительное влияние на экономическую эффективность молочной отрасли животноводства. Он негативно влияет на потребление корма, надой, скорость роста и репродуктивную функцию животных, а также ухудшает их здоровье и общее состояние.

Эти изменения приводят к значительным экономическим потерям в высокопродуктивном молочном животноводстве, особенно в условиях глобального изменения климата. Согласно современным данным, при ТВИ > 66 продуктивность животных может снижаться на 10-30%, а репродуктивная эффективность – на 20-30%. Для минимизации потерь в молочном скотоводстве необходимо:

Контролировать микроклимат в животноводческих помещениях (активные системы вентиляции, охлаждающие установки, доступ к воде).

Корректировать рационы (энергетические добавки, специальные витаминно-минеральные премиксы, антиоксиданты).

Совершенствовать селекционную работу (геномная селекция с учетом маркеров термотолерантности, методы

GWAS-анализа для идентификации ассоциированных SNP, мероприятия по разработке региональных программ разведения с акцентом на адаптивные качества).

TRAITS OF THERMOTOLERANCE IN CATTLE

Safina N.Yu. * – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0003-1184-3188); **Mukhanina E.N.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0001-9299-2104); **Shakirov Sh.K.** – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher (ORCID 0000-0002-3362-0463); **Gainutdinova E.R.** – Graduate student, Researcher (ORCID 0000-0002-2970-1500)

Tatar Scientific Research Institute of Agriculture "Kazan Scientific Center of Russia Academy of Sciences"

*natysafina@gmail.com

Financing: *This paper is performed as part of the grant of the Tatarstan Academy of Sciences, provided to young candidates of sciences (postdoctoral fellows) for the purpose of defending their doctoral dissertation, conducting research, as well as performing their work duties in scientific and educational organizations of the Republic of Tatarstan within the framework of the State Program of the Republic of Tatarstan "Scientific and Technological Development of the Republic of Tatarstan" (Contract No.78/2024-PD of December 16, 2024)*

ABSTRACT

The efficiency of livestock farming, especially dairy farming, in the context of global warming is determined by a complex of factors: climatic conditions (heat stress), feed base, physiological state of animals and their genetic adaptability. Elevated temperatures provoke complex disorders in cattle, including metabolic disorders and decreased productivity. Against the background of climate change, the impact of heat stress on cattle is a serious problem for animal husbandry. The objective of the review: to consider the signs of adaptive qualities and ther-

motolerance of cattle. In the context of climate change, heat stress in cattle is becoming a major concern for the livestock industry. Studies of domestic and foreign authors show that when the temperature-humidity index (THI) exceeds the threshold value (> 66), animals experience physiological disorders (increase in rectal temperature, increased respiration, etc.), behavioral changes (decreased activity, reduced feed intake, etc.), biochemical shifts (increased cortisol, increased ketone bodies, etc.), and biochemical changes (increased cortisol, increased ketone bodies, etc.).), biochemical shifts (increase in cortisol, increase in ketone bodies, etc.), decrease in productivity (decrease in milk yield, decrease in fat and protein mass fraction, change in fatty acid composition, decrease in live weight gain), deterioration of reproductive functions (decrease in fertilizability, and deterioration in sperm motility). Genetic studies have identified key markers of thermotolerance, including genes for heat shock proteins and factors (HSP and HSF), antioxidant enzymes, immunity and metabolism genes. However, selection is complicated by antagonism between productivity and stress tolerance. To minimize the consequences of negative effects of heat stress, it is recommended to control microclimate (ventilation, cooling) in livestock buildings, optimize feeding (introduction of antioxidant and vitamin supplements) and apply, along with traditional breeding methods, genetic selection using GWAS-analysis.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Shoulah S.A. Histopathological changes and oxidative stress associated with Fascioliasis in bovines / S.A. Shoulah, M.M.S. Gaballa, M.M. Al-Assas et al. // *Tropical Animal Health and Production*. – 2024. – Vol. 56. – P. 48. DOI 10.1007/s11250-024-03896-1
2. Ullah M. Effect of heat stress on production performance in dairy animals / M. Ullah, M. Ibrahim, T. Hussain et al. // *Biol. Clin. Sci. Res. J.* - 2024: - Vol. 5(1). – P. 1078. DOI 10.54112/bcsrj.v2024i1.1078
3. Муханина Е.Н. Изучение негативного влияния теплового стресса на показатели молочной продуктивности коров при различных способах содержания / Е.Н. Муханина, Ш.К. Шакиров, Н.Ю. Сафина и др. // *Международный вестник ветеринарии*. – 2024. – № 4. – С. 509–517. DOI 10.52419/issn2072issn2072-2419.2024.4.509
4. Современные технологии в кормопроизводстве и животноводстве, проблемы и пути их решения (500 вопросов и ответов) : справочник / Ш.К. Шакиров, О.Л. Шайтанов, М.А. Сушенцова [и др.]. – 4-е издание, доработанное и дополненное. – Казань: Академия наук РТ, 2023. – 416 с. – ISBN 978-5-9690-1188-5
5. Mader T.L. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle / T.L. Mader, M.S. Davis, T. Brown-Brandl // *Journal of Animal Science*. – 2006. – Vol. 84(3). – P. 712–719. DOI: 10.2527/2006.843712x
6. Gujar G. Characterization of thermophysiological, haematological, and molecular changes in response to seasonal variations in two tropically adapted native cattle breeds of Bos indicus lineage in hot arid ambience of Thar Desert / G. Gujar, V.K. Choudhary, P. Vivek et al. // *Int J Biometeorol.* – 2022. – Vol. 66. – P. 1515–1529. DOI 10.1007/s00484-022-02293-3
7. Shaji S. Summer season related to heat and nutritional stresses on the adaptive capability of goats based on blood biochemical response and hepatic HSP70 gene expression / S. Shaji, V. Sejian, M. Bagath et al. // *Biol Rhythm Res.* – 2017. – VOL. 48. – P. 65–83. DOI 10.1080/09291016.2016.1232340
8. Сафина Н.Ю. Динамика молочной продуктивности и качественного состава молока коров различных генотипов гена Hsp70.1 на фоне теплового воздействия / Н.Ю. Сафина, Е.Н. Муханина, Э.Р. Гайнутдинова и др. // *Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Материалы XIII Международной научно-практической конференции, Владикавказ, 08–10 декабря 2023 года.* – Владикавказ: Веста, 2023. – С. 239–242.
9. Luo H. Weighted single-step GWAS and

- RNA sequencing reveals key candidate genes associated with physiological indicators of heat stress in Holstein cattle / H. Luo, L. Hu, L.F. Brito et al. // *J. Anim. Sci. Biotechnol.* – 2022. – Vol. 13. – Art. 108. DOI 0.1186/s40104-022-00748-6
10. Țogoe D., Mincă N.A. The Impact of Heat Stress on the Physiological, Productive, and Reproductive Status of Dairy Cows / D. Țogoe, N.A. Mincă // *Agriculture.* – 2024. – Vol. 14(8). – Art. 1241. DOI 10.3390/agriculture14081241
11. Passamonti M.M. The Quest for Genes Involved in Adaptation to Climate Change in Ruminant Livestock / M.M. Passamonti, E. Somenzi, M. Barbato et al. // *Animals.* – 2021. – Vol. 11. – Art. 2833. DOI 10.3390/ani11102833
12. Fujii N. Na(+)-K(+)-ATPase plays a major role in mediating cutaneous thermal hyperemia achieved by local skin heating to 39°C / N. Fujii, G.P. Kenny, T. Amano, et al. // *J Appl Physiol.* – 2021. – Vol. 131. – P. 1408–1416. DOI 10.1152/jappphysiol.00073.2021
13. Wang Z. Novel SNPs in the ATP1B2 gene and their associations with milk yield, milk composition and heat-resistance traits in Chinese Holstein cows / Z. Wang, G. Wang, J. Huang et al. // *Mol Biol Rep.* – 2011. – Vol. 38(3). – P. 1749–1755. DOI 10.1007/s11033-010-0289-6
14. Белоусов А.И. Влияние теплового стресса на коров в сухостойный и послеродовой период / А.И. Белоусов, И.А. Шкуратова, А.С. Красноперов и др. // *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет).* – 2022. – № 3(64). – С. 93–101. DOI 10.31677/2072-6724-2022-64-3-93-101
15. Mylostyvyi R.V. Impact of heat stress on blood serum cortisol level in dairy cows / R.V. Mylostyvyi, M. Wrzecińska, M. Samardžija et al. // *Theoretical and Applied Veterinary Medicine.* – 2024. – Vol. 12(4). – P. 3–8. DOI 10.32819/2024.12016
16. Safina N. Polymorphism of the glutathioneperoxidase-1 gene (GPX-1 g. 189 T/C) and biochemical parameters of the blood serum of Holstein cattle / N. Safina, Sh. Shakirov, E. Gaynutdinova et al. // *E3s web of conferences.* – 2023. – Vol. 462. – P. 01018. DOI 10.1051/e3sconf/202346201018
17. Ighodaro O.M., Akinloye O.A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid / O.M. Ighodaro, O.A. Akinloye // *Alexandria Journal of Medicine.* – 2018. – Vol. 54(4). – P. 287–293. DOI 10.1016/j.ajme.2017.09.001
18. Bohlouli M. Genome-wide associations for heat stress response suggest potential candidate genes underlying milk fatty acid composition in dairy cattle / M. Bohlouli, K. Halli, T. Yin et al. // *J. Dairy Sci.* – 2022. – Vol. 105. – P. 3323–3340. DOI 10.3168/jds.2021-21152
19. Brown-Brandl T.M. Analyses of thermoregulatory responses of feeder cattle exposed to simulated heat waves / T.M. Brown-Brandl, R.A. Eigenberg, G.L. Hahn et al. // *Int J Biometeorol.* – 2005. – Vol. 49(5). – P. 285–296. DOI 10.1007/s00484-004-0250-2
20. Chen X. Effects of heat stress on endocrine, thermoregulatory, and lactation capacity in heat-tolerant and -sensitive dry cows / X. Chen, C. Li, T. Fang et al. // *Front. Vet. Sci.* – 2024. – Vol. 11. – Art. 1405263. DOI 10.3389/fvets.2024.1405263
21. Dovolou E. Heat Stress: A Serious Disruptor of the Reproductive Physiology of Dairy Cows / E. Dovolou, T. Giannoulis, I. Nanas et al. // *Animals.* – 2023. – Vol. 13(11). – Art. 1846. DOI 10.3390/ani13111846
22. Carabaño M.J. The challenge of genetic selection for heat tolerance: the dairy cattle example / M.J. Carabaño // *Adv Anim Biosci.* – 2016. – Vol. 7. – P. 218–222. DOI 10.1017/s2040470016000169
23. Nguyen T.T.T. Genomic selection for tolerance to heat stress in Australian dairy cattle / T.T.T. Nguyen, P.J. Bowman, M. Haile-Mariam et al. // *J Dairy Sci.* – 2016. – Vol. 99. – P. 2849–2862. DOI 10.3168/jds.2015-9685
24. Santana M.L. Genetics of heat tolerance for milk yield and quality in Holsteins / M.L. Santana, A.B. Bignardi, R.J. Pereira et al. // *Animal.* – 2017. – Vol. 11. – P. 4–14. DOI 10.1017/S1751731116001725
25. Cuellar C.J. Differences in body tempera-

- ture regulation during heat stress and seasonal depression in milk yield between Holstein, Brown Swiss, and crossbred cows / C.J. Cuellar, M. Saleem, L.M. Jensen et al. // *J. Dairy Sci.* – 2023. – Vol. 106. – P. 3625–3632. DOI 10.3168/jds.2022-22725
26. Kishore A. Transcriptional Stability of Heat Shock Protein Genes and Cell Proliferation Rate Provides an Evidence of Superior Cellular Tolerance of Sahiwal (*Bos indicus*) Cow PBMCs to Summer Stress / A. Kishore, M. Sodhi, A. Sharma et al. // *Research & Reviews: Journal of Veterinary Sciences.* – 2016. – Vol. 2(1). – P. 33–40.
27. Юдин Н.С. Молекулярные маркеры адаптации к холодному климату у крупного рогатого скота / Н.С. Юдин, А.В. Игошин, Д.М. Ларкин // *Письма в Вавилонский журнал генетики с селекции.* – 2023. – № 9(1). – 5–14. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-02
28. Rowinski J.R. Impact of an acute heat shock during in vitro maturation on interleukin 6 and its associated receptor component transcripts in bovine cumulus-oocyte complexes / J.R. Rowinski, L.A. Rispoli, R.R. Payton et al. // *J. Lannett Edwards Anim Reprod.* – 2021. – Vol. 17(4). – e20200221. DOI 10.1590/1984-3143-AR2020-0221
29. Safina N.Yu. Associations of the SCD1 gene SNP with fatty acids composition of Holstein cows / N.Yu. Safina, Sh.K. Shakirov, R.Kh. Ravilov et al. // *Bio web of conferences.* – 2020. – Vol. 27. – P. 00060. DOI 10.1051/bioconf/20202700060.
30. Wertheimer E. The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 belongs to the glucose-regulated protein family of stress-inducible proteins / E. Wertheimer, S. Sasson, E. Cerasi et al. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1991. – Vol. 88. – P. 2525–2529. DOI 10.1073/pnas.88.6.2525
31. Charoensook R. Polymorphisms in the bovine HSP90AB1 gene are associated with heat tolerance in Thai indigenous cattle / R. Charoensook, K. Gatphayak, A.R. Sharifi, et al. // *Trop Anim Health Prod.* – 2012. – Vol. 44. – P. 921–928. DOI 10.1007/s11250-011-9989-8
32. Prasanna Sai J. Association of SSCP Polymorphisms of HSP70 Gene with Physiological, Production and Reproduction Performance in Sahiwal and Crossbred Cows / J. Prasanna Sai, S.T. Rao Viroji, M. Prakash Gnana et al. // *Asian Journal of Dairy and Food Research.* – 2022. – Vol. 41(2). – P. 150–155. DOI 10.18805/ajdfr.DR-1796
33. De Campos J.S. Potentials of single nucleotide polymorphisms and genetic diversity studies at HSP90AB1 gene in Nigerian White Fulani, Muturu, and N'Dama cattle breeds / J.S. De Campos, G.O. Onasanya, A. Ubong et al. // *Trop Anim Health Prod.* – 2024. – Vol. 56. – Art. 58. DOI 10.1007/s11250-024-03909-z
34. Sajjanar B. Identification of SNP in HSP90AB1 and its Association with the Relative Thermotolerance and Milk Production Traits in Indian Dairy Cattle / B. Sajjanar, R. Deb, U. Singh et al. // *Animal Biotechnology.* – 2015. – Vol. 26(1). P. 45–50. DOI 10.1080/10495398.2014.882846
35. Sailo L.I.D. Association of single nucleotide polymorphism of Hsp90ab1 gene with thermotolerance and milk yield in Sahiwal cows / L.I.D. Sailo, A.V. Gupta, R. Das et al. // *African Journal of Biochemistry Research.* – 2015. – Vol. 9(8). – P. 99–103. DOI 10.5897/AJBR2015.0837
36. Atalay S., Kök S. The comparison of polymorphisms in the heat shock transcription factor 1 gene of Turkish grey cattle and Holstein cattle / S. Atalay, S. Kök // *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* – 2023. – Vol. 29(5). – P. 429–435. DOI 10.9775/kvfd.2023.29256
37. Челомина Г.Н. Ландшафтная геномика (краткий обзор) / Г.Н. Челомина // *Биота и среда природных территорий.* – 2021. – № 4. – С. 122–134. DOI 10.37102/2782-1978_2021_4_6

REFERENCES

1. Shoulah S.A., Gaballa M.M.S., Al-Assas M.M., Saqr S.A., Gattan H.S., Selim A. Histopathological changes and oxidative stress associated with Fascioliasis in bovines // *Tropical Animal Health and Production.* 2024. 56:48 DOI 10.1007/s11250-024-03896-1
2. Ullah M., Ibrahim M., Hussain T., Ullah A., Hussain A., Sahin T., Ahmad S., Khan A.M.A., Sadiq A.B., Shah K.A. Effect of

- heat stress on production performance in dairy animals // *Biol. Clin. Sci. Res. J.* 2024. 1078. DOI <https://doi.org/10.54112/bcsrj.v2024i1.1078>
3. Mukhanina E.N., Shakirov Sh.K., Safina N.Yu., Gaynutdinova E.R. Study of the negative effect of heat stress on dairy productivity of cows under different housing methods // *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2024. 4:509–517. DOI 10.52419/issn2072issn2072-2419.2024.4.509
4. Shakirov Sh.K., Shajtanov O.L., Sushencova M.A. et al. Modern technologies in feed and animal production, problems and ways to solve them (500 questions and answers): reference book. 4th ed., revised and enlarged. Kazan: AN RT Publishing House. 2023: 426. ISBN 978-5-9690-1188-5
5. Mader T.L., Davis M.S., Brown-Brandl T. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle // *Journal of Animal Science*. 2006. 84(3):712–719. DOI: 10.2527/2006.843712x
6. Gujar G., Choudhary V.K., Vivek P., Sodhi M., Choudhary M., Tiwari M., Masharing N., Mukesh M. Characterization of thermo-physiological, haematological, and molecular changes in response to seasonal variations in two tropically adapted native cattle breeds of Bos indicus lineage in hot arid ambience of Thar Desert // *Int J Biometeorol*. 2022. 66:1515–1529. DOI 10.1007/s00484-022-02293-3
7. Shaji S., Sejian V., Bagath M., Manjunathareddy G.B., Kurien E.K., Varma G., Bhatta R. Summer season related to heat and nutritional stresses on the adaptive capability of goats based on blood biochemical response and hepatic HSP70 gene expression // *Biol Rhythm Res*. 2017. 48:65–83. DOI 10.1080/09291016.2016.1232340
8. Safina N.Yu., Mukhanina E.N., Gaynutdinova E.R., Shakirov Sh.K. Dynamics on dairy productivity and milk quality in cattle with different genotypes by HSP70.1 gene under thermal impact // *Young scientists in solving urgent problems of science : Proceedings of the XIII International Scientific and Practical Conference, Vladikavkaz, Dec 08-10, 2023*. 239–242.
9. Luo H., Hu L., Brito L.F., Dou J., Sammad A., Chang Y., Ma L., Guo G., Liu L., Zhai L., Weighted single-step GWAS and RNA sequencing reveals key candidate genes associated with physiological indicators of heat stress in Holstein cattle // *J. Anim. Sci. Biotechnol*. 2022. 13:108. DOI 0.1186/s40104-022-00748-6
10. Țogoe D., Mincă N.A. The Impact of Heat Stress on the Physiological, Productive, and Reproductive Status of Dairy Cows. *Agriculture*. 2024. 14(8):1241. DOI 10.3390/agriculture14081241
11. Passamonti M.M., Somenzi E., Barbato M., Chillemi G., Colli L., Joost S, Milanese M., Negrini R., Santini M., Vajana E., Williams J.L., Ajmone-Marsan P. The Quest for Genes Involved in Adaptation to Climate Change in Ruminant Livestock // *Animals*. 2021. 11:2833. DOI 10.1152/japplphysiol.00073.2021
12. Fujii N., Kenny G.P., Amano T., Honda Y., Kondo N., Nishiyasu T. Na(+)-K(+)-ATPase plays a major role in mediating cutaneous thermal hyperemia achieved by local skin heating to 39°C // *J Appl Physiol*. 2021. 131:1408–1416. DOI 10.1152/japplphysiol.00073.2021
13. Wang Z., Wang G., Huang J., Li Q., Wang C., Zhong J. Novel SNPs in the ATP1B2 gene and their associations with milk yield, milk composition and heat-resistance traits in Chinese Holstein cows // *Mol Biol Rep*. 2011. 38(3):1749–1755. DOI 10.1007/s11033-010-0289-6
14. Belousov A.I., Shkuratova I.A., Krasnopetrov A.S., Oparina O.I., Malkov S.V. Influence of heat stress on cows during the dry and postpartum period. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2022. (3):93–101. DOI 10.31677/2072-6724-2022-64-3-93-101
15. Mylostyvyi R.V., Wrzecińska M., Samardžija M., Gutj B.V., Yefimov V.H., Skliarov P.M. & Lieshchova M.O. Impact of heat stress on blood serum cortisol level in dairy cows // *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 2024. 12(4):3–8. DOI 10.32819/2024.12016
16. Safina N., Shakirov Sh., Gaynutdinova E., Mukhanina E., Shayakhmetova L., Bagavieva E., Fattakhova Z., Akhmetov T.,

- Zagidullin L., Haertdinov R. Polymorphism of the glutathioneperoxidase-1 gene (GPX-1 g. 189 T/C) and biochemical parameters of the blood serum of Holstein cattle // E3s web of conferences. 2023. 462:01018. DOI 10.1051/e3sconf/202346201018
- 17.Ighodaro O.M., Akinloye O.A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid // Alexandria Journal of Medicine. 2018. 54(4):287–293. DOI 10.1016/j.ajme.2017.09.001
- 18.Bohlouli M., Halli K., Yin T., Gengler N., König S. Genome-wide associations for heat stress response suggest potential candidate genes underlying milk fatty acid composition in dairy cattle // J. Dairy Sci. 2022. 105:3323–3340. DOI 10.3168/jds.2021-21152
- 19.Brown-Brandl T.M., Eigenberg R.A., Hahn G.L., Nienaber J.A., Mader T.L., Spiers D.E., Parkhurst A.M. Analyses of thermoregulatory responses of feeder cattle exposed to simulated heat waves // Int J Biometeorol. 2005. 49(5):285–296. DOI 10.1007/s00484-004-0250-2
- 20.Chen X., Li C., Fang T., Yao J. and Gu X. Effects of heat stress on endocrine, thermoregulatory, and lactation capacity in heat-tolerant and -sensitive dry cows // Front. Vet. Sci. 2024. 11:1405263. DOI 10.3389/fvets.2024.1405263
- 21.Dovolou E., Giannoulis T., Nanas I. and Georgios S. A. Heat Stress: A Serious Disruptor of the Reproductive Physiology of Dairy Cows // Animals. 2023. 13(11):1846. DOI 10.3390/ani13111846
- 22.Carabaño M.J. The challenge of genetic selection for heat tolerance: the dairy cattle example // Adv Anim Biosci. 2016. 7:218–222. DOI 10.1017/s2040470016000169
- 23.Nguyen T.T.T., Bowman P.J., Haile-Mariam M., Pryce J.E., Hayes B.J. Genomic selection for tolerance to heat stress in Australian dairy cattle // J Dairy Sci. 2016. 99:2849–2862. DOI 10.3168/jds.2015-9685
- 24.Santana M.L., Bignardi A.B., Pereira R.J., Stefani G., El Faro L. Genetics of heat tolerance for milk yield and quality in Holsteins // Animal. 2017. 11:4–14. DOI 10.1017/S1751731116001725
- 25.Cuellar C.J., Saleem M., Jensen L.M., Hansen P.J. Differences in body temperature regulation during heat stress and seasonal depression in milk yield between Holstein, Brown Swiss, and crossbred cows // J. Dairy Sci. 2023. 106:3625–3632. DOI 10.3168/jds.2022-22725
- 26.Kishore A., Sodhi M., Sharma A., Shandilya U.K., Mohanty A., Verma P., Mann S., Mukes M. Transcriptional Stability of Heat Shock Protein Genes and Cell Proliferation Rate Provides an Evidence of Superior Cellular Tolerance of Sahiwal (Bos indicus) Cow PBMCs to Summer Stress // Research & Reviews: Journal of Veterinary Sciences. 2016. 2(1):33–40.
- 27.Yudin N.S., Igoshin A.V., Larkin D.M. Molecular markers of adaptation to the cold climate in cattle // Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2023. 9(1):5–14. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-02
- 28.Rowinski J.R., Rispoli L.A., Payton R.R., Schneider L.G., Schrick F.N., McLean K.J. Impact of an acute heat shock during in vitro maturation on interleukin 6 and its associated receptor component transcripts in bovine cumulus-oocyte complexes // J. Lannett Edwards Anim Reprod. 2021. 17 (4):e20200221. DOI 10.1590/1984-3143-AR2020-0221
- 29.Safina N.Yu., Shakirov Sh.K., Ravilov R.Kh., Sharafutdinov G.S. Associations of the SCD1 gene SNP with fatty acids composition of Holstein cows // Bio web of conferences. 2020. 27:00060. DOI 10.1051/bioconf/20202700060.
- 30.Wertheimer E., Sasson S., Cerasi E., Ben Neriah Y. The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 belongs to the glucose-regulated protein family of stress-inducible proteins // Proc Natl Acad Sci USA. 1991. 88:2525–2529. DOI 10.1073/pnas.88.6.2525
- 31.Charoensook R., Gatphayak K., Sharifi A.R., Chaisongkram Ch., Brenig B., Knorr Ch. Polymorphisms in the bovine HSP90AB1 gene are associated with heat tolerance in Thai indigenous cattle // Trop Anim Health Prod. 2012. 44:921–928. DOI 10.1007/s11250-011-9989-8
- 32.Prasanna Sai J., Rao Viroji S.T., Prakash

- Gnana M., Rathod Suresh, Kalyani P., Reddy Rajith B. Association of SSCP Polymorphisms of HSP70 Gene with Physiological, Production and Reproduction Performance in Sahiwal and Crossbred Cows // *Asian Journal of Dairy and Food Research*. 2022. 41(2):150–155. DOI 10.18805/ajdfr.DR-1796
33. De Campos J.S., Onasanya G.O., Ubong A. Afolabi T.Y., Adeyemi S.A., Akinfolarin A.M., Christian O.I. Potentials of single nucleotide polymorphisms and genetic diversity studies at HSP90AB1 gene in Nigerian White Fulani, Muturu, and N'Dama cattle breeds // *Trop Anim Health Prod*. 2024. 56:58. DOI 10.1007/s11250-024-03909-z
34. Sajjanar B., Deb R., Singh U., Kumar S., Brahmane M., Nirmale A., Kumar Bal S., Minhas P.S. Identification of SNP in HSP90AB1 and its Association with the Relative Thermotolerance and Milk Production Traits in Indian Dairy Cattle // *Animal Biotechnology*. 2015. 26(1):45–50. DOI 10.1080/10495398.2014.882846
35. Sailo L.I.D., Gupta A.V., Das R., Chaudhari M.V. Association of single nucleotide polymorphism of Hsp90ab1 gene with thermotolerance and milk yield in Sahiwal cows // *African Journal of Biochemistry Research*. 2015. 9(8):99–103. DOI 10.5897/AJBR2015.0837
36. Atalay S, Kök S: The comparison of polymorphisms in the heat shock transcription factor 1 gene of Turkish grey cattle and Holstein cattle // *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2023. 29(5):429–435. DOI 10.9775/kvfd.2023.29256
37. Chelomina G.N. Landscape genomics (short review) // *Biota and Environment of Natural Areas*. 2021. 4:122-134. DOI 10.37102/2782-1978_2021_4_6



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 575.854:616-006.66+636.9

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.201

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ДЕКОРАТИВНЫХ КРЫС

Патрикеев Н.В. – асп. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0009-0002-8653-1517); **Зирук И.В.*** – д-р ветеринар. наук, доц., проф. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0000-0001-7300-3956)

ФГБОУ ВО «Вавиловский университет»

*iziruk@yandex.ru

Ключевые слова: аденокарцинома молочной железы, онкология грызунов, опухоли у крыс, ветеринарная онкология, гистологическая диагностика, хирургическое лечение опухолей, рецидивирующие новообразования, лабораторные животные, дифференциальная диагностика.

Key words: breast adenocarcinoma, rodent oncology, tumors in rats, veterinary oncology, histological diagnostics, surgical treatment of tumors, recurrent neoplasms, laboratory animals, differential diagnosis.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках научно-исследовательской работы аспиранта.

Поступила: 30.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Онкологические заболевания представляют серьезную проблему в ветеринарной медицине, требуя особого внимания в диагностике и лечении. У животных злокачественные новообразования характеризуются неконтролируемым ростом клеток с инвазивным распространением в окружающие ткани, что значительно осложняет терапию и ухудшает прогноз. Особую сложность представляет поздняя диагностика опухолей у животных, связанная с отсутствием специфических симптомов на ранних стадиях. Это обуславливает необходимость углубленного изучения механизмов развития новообразований у различных видов животных и разработки эффективных протоколов их лечения. В данной работе изучено одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований у крыс – аденокарцинома молочной железы, которое является достаточно агрессивной опухолью, развивающейся из железистого эпителия. Для изучаемого новообразования характерны быстрый инвазивный рост и высокая склонность к рецидивам. Нами в условиях ветеринарной клиники г. Саратов Родентовет и ФГБОУ ВО «Вавиловский университет» были проведены клинические осмотры и лечение самок декоративных крыс в возрасте от 1 года до 2 лет с новообразо-

ванием в области молочной железы. Для диагностики нами проведены комплексные клинические обследования, включавшее визуальную оценку состояния животного, пальпаторное исследование новообразования и оценку общего статуса. При обследовании выявлены плотные, неподвижные образования диаметром около 1-1,3 см, спаянные с подлежащими тканями, с неизменной кожей над опухолью. Нами проведены хирургические вмешательства, которые позволили удалить новообразования с захватом окружающих тканей. Гистологическая верификация удаленных образований подтвердила типичные морфологические признаки злокачественного процесса: выраженный клеточный атипизм, инфильтративный характер роста и наличие обширных участков некроза.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Онкологические заболевания представляют серьезную проблему в ветеринарной медицине, требуя особого внимания в диагностике и лечении. У животных злокачественные новообразования характеризуются неконтролируемым ростом клеток с инвазивным распространением в окружающие ткани, что значительно осложняет терапию и ухудшает прогноз [1, 8]. Особую сложность представляет поздняя диагностика опухолей у животных, связанная с отсутствием специфических симптомов на ранних стадиях. Это обуславливает необходимость углубленного изучения механизмов развития новообразований у различных видов животных и разработки эффективных протоколов их лечения.

У крыс новообразования встречаются особенно часто, что может быть связано с особенностями их физиологии и возрастных изменений [2, 5, 9]. Одной из наиболее распространенных злокачественных опухолей является аденокарцинома молочной железы - агрессивное новообразование, происходящее из железистого эпителия. Для данной опухоли характерны быстрый инвазивный рост, высокая склонность к рецидивированию после хирургического удаления и способность к метастазированию [6, 7]. Гистологически аденокарцинома проявляется выраженным клеточным атипизмом, нарушением архитектоники ткани и наличием участков некроза. Изучение подобных случаев имеет важное значение для совершенствования подходов к диагностике и лечению опухолевых заболеваний у мелких домашних животных.

Целью работы являлось – изучение

клинико-морфологических особенностей аденокарциномы молочной железы у декоративных крыс с оценкой эффективности хирургического лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В условиях ветеринарной клиники г. Саратов «Родентовет» и ФГБОУ ВО «Вавиловский университет» были проведены клинические осмотры и лечение самок декоративных крыс в возрасте от 1 года до 2 лет с новообразованием в области молочной железы. Было обнаружено объемное образование в области молочной железы, отмечая незначительное увеличение его размеров. Для диагностики были проведены комплексные клинические обследования, включавшее визуальную оценку состояния животного, пальпаторное исследование новообразования и оценку общего статуса. При обследовании выявлены плотные, неподвижные образования диаметром около 1-1,3 см, спаянные с подлежащими тканями, с неизменной кожей над опухолью. Общее состояние животных оценивалось как удовлетворительное: активность выражена, аппетит сохранен, сознание ясное, видимые слизистые оболочки розовые, поверхностные лимфатические узлы без изменений, температура тела находилась в пределах физиологической и возрастной нормы, дыхание без особенностей – одышка не наблюдалась, сердечный ритм ровный - ЧСС в пределах нормы.

Хирургическое вмешательство выполнялось под ингаляционным наркозом с использованием изофлурана в концентрации 1000 мг/мл. В качестве предоперационной медикации животным ввели мелоксикам в дозе 1 мг/кг для предотвра-

ния воспалительной реакции и снятие первичной послеоперационной боли, и лидокаин 4 мг/кг для проведения местной анестезии и обеспечения дополнительного уровня анальгезии в зоне оперативного вмешательства. Технически операции заключались в широком иссечении новообразования с захватом окружающих тканей [3]. Гомеостаз осуществлялся методом электрокоагуляции, для ушивания раны использовался монофиламентный рассасывающийся шовный материал полигликолид-ко-капролактон 5/0. После резекции послеоперационный биоптат фиксировали в 10% нейтральном формалине и направили на гистологическое исследование в лабораторию VetUnion.

Послеоперационный уход включал назначение мелоксикама в дозе 1 мг/кг/сутки в течение 3-5 дней, содержание животных на стерильных одноразовых пеленках и ежедневный контроль состояния послеоперационной раны.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведенные хирургические вмешательства позволили удалить новообразования с захватом окружающих тканей. Интраоперационный период характеризовался минимальной кровопотерей, которая легко контролировалась электрокоагуляцией. Послеоперационный период протекал без осложнений - швы оставались сухими, признаков воспаления или расхождения краев раны не наблюдалось. Животные сохраняли хороший аппетит и активность, болевой синдром был купирован анальгетической терапией.

Гистологическое исследование выявило типичную картину аденокарциномы молочной железы. Макроскопически опухоль представляла собой лоскут кожи с образованием общим размером 1,5х1х0,5 см. На разрезе образование коричневое зернистое с белесовато-желтым участком. Микроскопически отмечались: узловой (нодулярный) тип роста, тубулярно-папиллярное строение. Клетки опухоли средних размеров, плотно расположены друг к другу, округлой, овальной, местами неправильной, полигональной и кубической формы, с умеренно выраженным полиморфизмом, с умеренно выраженной эозинофильной, местами светлой и вакуолизированной цитоплазмой, с неразличимыми клеточными границами. Ядра средних размеров, умеренно полиморфные, округлой и овальной, реже неправильной формы, светлые и нормохромные, с мелкодисперсным хроматином, во многих ядрах хорошо заметны мелкие ядрышки. Определяется умеренное количество митозов (0-2 в поле зрения, в сумме 13 митотических фигур на 10 полей зрения при увеличении 400). Строма опухоли умеренно развита, представлена тяжами фиброзной соединительной ткани. В ткани опухоли наблюдали очаги некроза, представленные неструктурированными эозинофильными массами, клеточным детритом, с выраженной полиморфноклеточной инфильтрацией. Опухоль не содержала капсулы. Отмечается инвазивный характер роста [6] (Рисунок 1).

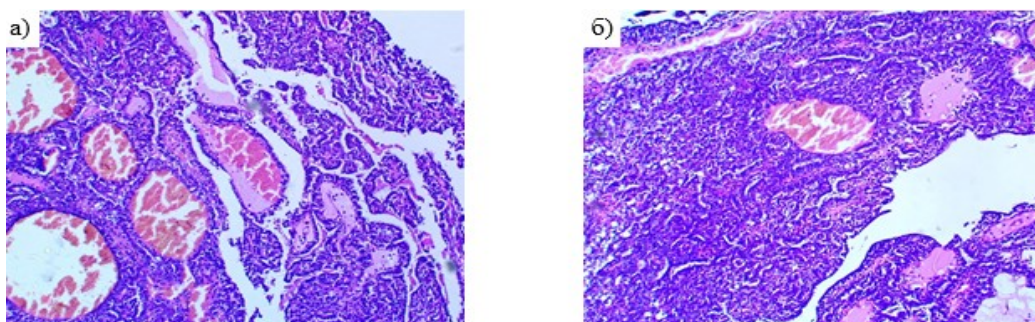


Рисунок 1 – а), б) Гистологическая картина аденокарциномы молочной железы (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$).

Через три недели после операции были проведены повторные осмотры, при котором обнаружено появление новых образований в той же области, диаметром около 0,4 см с аналогичными клиническими характеристиками - плотная, неподвижная, безболезненная, с неизменной кожей над образованием. Данные случаи подтвердили высокую склонность аденокарцином молочных желез у крыс к рецидивированию даже после радикального хирургического удаления.

После первой операции животные чувствовали себя удовлетворительно, осложнений не наблюдалось. Однако быстрый рост нового образования свидетельствовал о высокой агрессивности опухолевого процесса. Особенностью данных исследований стало стремительное рецидивирование после выполненного хирургического вмешательства, что указывает на необходимость более тщательного мониторинга подобных пациентов в послеоперационном периоде.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Представленные исследования аденокарциномы молочной железы у декоративных крыс наглядно иллюстрирует сложности терапии онкологических заболеваний у мелких грызунов. Несмотря на технически успешно выполненное хирургическое вмешательство с радикальным иссечением опухоли и благоприятным послеоперационным течением, наблюдение за пациентами выявило характерные проблемы, свойственные данному типу новообразований. Особенно показательным оказалось стремительное развитие рецидива – уже через три-четыре недели после операции были отмечены появление нового опухолевого узла в той же анатомической области. Аденокарцинома молочной железы у крыс характеризуется высоким риском рецидива и возможным метастазированием [4, 6].

Гистологическая верификация удаленных образований подтвердила типичные морфологические признаки злокачественного процесса: выраженный клеточный атипизм, инфильтративный характер роста и наличие обширных участков некро-

за. Данные исследования объясняют клинически агрессивное поведение опухоли и ее склонность к быстрому рецидивированию даже после кажущегося радикального вмешательства. Примечательно, что, несмотря на злокачественный характер процесса, общее состояние животных оставалось удовлетворительным как в предоперационном периоде, так и после хирургического лечения.

Данное наблюдение подчеркивает необходимость разработки более эффективных подходов к лечению опухолевых заболеваний у грызунов, поскольку существующие методы, основанные преимущественно на хирургическом вмешательстве, часто оказываются недостаточными для достижения стойкого терапевтического эффекта. Особую важность приобретает вопрос о реальных перспективах лечения и вероятном прогнозе, что позволяет избежать неоправданных ожиданий и своевременно принимать решения о дальнейшей тактике ведения пациента.

HISTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MAMMARY ADENOCARCINOMA IN AN ORNAMENTAL RAT

Patrikeev N.V. – PhD Student, Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0009-0002-8653-1517); **Ziruk I.V.*** – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0000-0001-7300-3956)

Vavilov University

*iziruk@yandex.ru

***Funding:** The materials were prepared as part of the postgraduate's research work.*

ABSTRACT

Oncological diseases are a serious problem in veterinary medicine, requiring special attention in diagnosis and treatment. In animals, malignant neoplasms are characterized by uncontrolled cell growth with invasive spread into surrounding tissues, which significantly complicates therapy and worsens the prognosis. The late diagnosis of tumors

in animals is particularly difficult due to the absence of specific symptoms in the early stages. This necessitates an in-depth study of the mechanisms of neoplasm development in various animal species and the development of effective protocols for their treatment. In this work, we studied one of the most common malignant neoplasms in rats - mammary adenocarcinoma, which is a rather aggressive tumor developing from the glandular epithelium. The neoplasm under study is characterized by rapid invasive growth and a high tendency to recurrence. We conducted clinical examinations and treatment of female ornamental rats aged 1 to 2 years with a neoplasm in the breast area in the conditions of the Saratov Rodentovet veterinary clinic and the Vavilovsky University. For diagnosis, we conducted comprehensive clinical examinations, including a visual assessment of the animal's condition, a palpation examination of the neoplasm and an assessment of the general status. The examination revealed dense, immobile formations with a diameter of about 1-1.3 cm, soldered to the underlying tissues, with unchanged skin above the tumor. We performed surgical procedures that allowed us to remove the tumors.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Безвисельная, Е.А. Клинико-Морфологическая картина дольковой аденокарциномы молочной железы с перстневидноклеточной дифференцировкой / Е.А. Безвисельная // Материалы XV Международной научно-практической конференции молодых ученых. Красноярск, 2022. – С. 138-142. Режим доступа: <https://wjso.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7819-11-183>
2. Ибадуллаева, Ф.С. Структурные особенности метастатических поражений легких лабораторных крыс и мышей при развитии различных видов опухоли / Ф.С. Ибадуллаева, Е.С. Джадранов, М. Ж. Ергазина, А.В. Красноштанов и др. // Вестник КазНМУ, 2016. – №4. – С. 297-302.
3. Салаутин, В.В. Онкология: метод. пособие по выполнению лабораторных работ для специальности 36.05.01 Ветеринария / В.В. Салаутин, И.В. Акчурина, И.Ю. Домницкий, А.А. Терентьев // ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. – Саратов, 2017. – С. 7-27. Режим доступа: <https://www.vavilovsar.ru/files/pages/27407/14695309546.pdf>
4. Струнина, Я.Д. Клинический случай. Новообразование у крысы / Я.Д. Струнина // Сборник клинических случаев / Науч. ред. Л.И. Дроздова. – Екатеринбург: Уральский ГАУ, 2020. – С. 129-130. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43836614>
5. Петрова, М.В. К вопросу о патолого-анатомическом проявлении аденокарциномы надпочечников собак/Петрова М.В., Краснолобова Е.П., Веремеева С.А., Маслова Е.Н.//Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2024. – № 3. – С. 84-88. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=67852943>
6. Щипакин, М.В. Цитология стромы молочной железы коз зааненской породы при различных функциональных состояниях /Щипакин М.В.//Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2013. – № 4. – С. 57-59. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=20933119>
7. Щипакин, М.В. Ультраструктура паренхимы молочной железы /Щипакин М.В.//Иппология и ветеринария. – 2014. – № 3 (13). – С. 75-79. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22112105>
8. Kazuya K. Spontaneous Mammary Adenocarcinoma in a Twelve-week-old Female Sprague-Dawley Rat / Kazuya K., Shibunushi T., Kangawa Y., Kihara T. // Toxicologic pathology, 2012. – no. 25(3). – pp 221-224. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22988341/>
9. Mann P.C. Proliferative Lesions of the Mammary Gland in Rats / Mann P.C., Boorman G.A., Lollini L.O., McMartin D.N. et al. // Society for Toxicologic pathology. Washington, D. S., 1996. – P.11.

REFERENCE

1. Bezviselnaya E.A. Clinical and morphological picture of lobular adenocarcinoma of

- the breast with ring-shaped cell differentiation / E.A. Bezviselnaya // Proceedings of the XV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists. Krasnoyarsk, 2022. – pp. 138-142. URL: <https://wjso.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7819-11-183>
2. Ibadullayeva G.S. Structural features of metastatic lung lesions in laboratory rats and mice during the development of various types of tumors / G.S. Ibadullayeva, E.S. Jadranov, M. Zh. Ergazina, A.V. Krasnoshtanov et al. // Bulletin of KazNMU, 2016. – No. 4. – Pp. 297-302. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/strukturnye-osobennosti-metastaticheskikh-porazheniy-legkih-laboratornykh-krysi-i-myshey-pri-razviti-i-razlichnykh-vidov-opukholey>
3. Salautin V.V. Oncology: method. manual on performing laboratory work for the specialty 05/36.01 Veterinary Medicine / V.V. Salautin, I.V. Akchurina, I.Yu. Domnitsky, A.A. Terentyev // Saratov State Agrarian University, Saratov, 2017. – pp. 7-27. URL: <https://www.vavilovsar.ru/files/pages/27407/14695309546.pdf>
4. Strunina Ya.D. Clinical case. Neoplasm in rats / Ya.D. Strunina // Collection of clinical cases / Scientific ed. by L.I. Drozdov. Yekaterinburg: Ural State Agrarian University, 2020, – pp. 129-130. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43836614>
5. Petrova, M.V. On the issue of the pathological manifestation of adrenal adenocarcinoma in dogs/Petrova M.V., Krasnolobova E.P., Veremeeva S.A., Maslova E.N.// Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. – 2024. – № 3. – pp. 84-88. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=67852943>
6. Shchipakin, M.V. Cytology of the breast stroma of Zaanen goats in various functional conditions /Shchipakin M.V.// Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2013. – No. 4. – pp. 57-59. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=20933119>
7. Shchipakin, M.V. Ultrastructure of the breast parenchyma /Shchipakin M.V.// Hippology and veterinary medicine. – 2014. – No. 3 (13). – pp. 75-79. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22112105>
8. Kazuya K. Spontaneous Mammary Adenocarcinoma in a Twelve-week-old Female Sprague-Dawley Rat / Kazuya K., Shibamushi T., Kangawa Y., Kihara T. // Toxicologic pathology, 2012. – no. 25(3). – pp 221-224. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22988341/>
9. Mann P.C. Proliferative Lesions of the Mammary Gland in Rats / Mann P.C., Boorman G.A., Lollini L.O., McMartin D.N. et al. // Society for Toxicologic pathology. Washington, D. S., 1996.– P.11.

УДК: 611.718.9:611.147.39:599.731.11
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.207

АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЕН СУСТАВОВ ПАЛЬЦЕВ СВИНЬИ

Кичеева Т.Г.*¹ – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. доклинических дисциплин (ORCID 0009-0003-4874-5060); **Мельников С.И.²** – канд. ветеринар. наук, асс. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-0963-8751).

¹ ФГБОУ ВО «Верхневолжский государственный агробиотехнологический университет»

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* kafedra2020igsha@mail.ru

Ключевые слова: фаланги пальцев, новорожденные поросята, морфометрические параметры, тазовая конечность, вены пальцев, клапанный индекс.

Key words: phalanges of fingers, newborn piglets, morphometric parameters, pelvic limb, veins of fingers, valve index.

Поступила: 21.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Повреждение или патология венозного русла в зоне пальцевых суставов может привести к развитию отёков, трофических нарушений, вторичным воспалительным процессам и, как следствие, к хромоте, что существенно снижает мобильность животных и их продуктивность в условиях промышленного свиноводства. Фундаментальное понимание взаимосвязи сосудистой системы с опорно-двигательным аппаратом позволяет прогнозировать последствия травм, инфекций или нарушений кровообращения: например, компрессия вен при механических повреждениях или деформациях копытного рога может спровоцировать ишемию тканей, некроз сухожилий или костные деструкции, что требует неотложных хирургических вмешательств. Цель исследования – установить анатомо-топографические особенности вен суставов пальцев у свиньи породы йоркшир и определить морфометрические параметры. Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ со свиноводческого комплекса Ленинградской области. Исследование проводили согласно периодизации жизни свиней: третья стадия развития – вторая молочная (22-45 дней постнатального периода). В исследовании использовали новорожденных поросят 28-30 дней постнатального периода онтогенеза. Исследовано 10 тазовых конечностей, полученных от пяти свиней породы йоркшир. В ходе исследования были установлены анатомо-топографические особенности вен суставов пальцев у свиньи породы йоркшир и определены морфометрические параметры. Знание анатомо-топографических особенностей вен суставов пальцев тазовой конечности у свиней необходимо для понимания их физиологической роли в поддержании гемодинамики, трофики тканей и адаптации к нагрузкам. Венозная система этой области обеспечивает не только отток крови, противодействие венозному застою при длительной статической

нагрузке, а также в дренаже метаболитов из активно работающих мышц и суставных структур. Кроме того, вариабельность анатомии венозных коллатералей, их связь с глубокой и поверхностной системами кровообращения придают необходимость индивидуального подхода при проведении операций, назначении терапии и профилактике осложнений.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Анализ существующих научных трудов позволяет констатировать отсутствие единого мнения в вопросе анатомических вариантов хода и ветвления сосудов, дренирующих кровь от тазовой конечности животных. Структуры, входящие в систему кровоснабжения венозных сосудов демонстрируют значительную индивидуальную изменчивость в топографии ветвления, что подчеркивается в многочисленных исследованиях [1,2]. Особую актуальность эти данные приобретают в хирургической практике: точное знание анатомических особенностей критически важно при оперативных манипуляциях на конечностях, особенно в контексте травматических повреждений. Например, при травмах тазовых конечностей у животных часто регистрируют интенсивные кровотечения, где компетентность ветеринарного хирурга в вопросах ангиоархитектоники напрямую влияет на успешность гемостаза и профилактику осложнений. Не менее значимым аспектом является взаимосвязь сосудистой системы с опорно-двигательным аппаратом [3-6]. В контексте венозной системы свиней следует отметить её ключевую роль в поддержании гемодинамики: венозное русло обеспечивает не только возврат крови к сердцу, но и участвует в терморегуляции, метаболическом обмене и депонировании крови. Нарушения венозного оттока (например, при компрессии сосудов или тромбозах) могут провоцировать отёки, трофические язвы и прочие патологии, что особенно критично в свиноводстве, где мобильность животных напрямую влияет на продуктивность. Повреждение или патология венозного русла в зоне пальцевых суставов может привести к развитию отёков, трофических нарушений, вторичным воспалительным процессам и, как следствие, к хромоте, что существенно снижает мобильность животных

и их продуктивность в условиях промышленного свиноводства. Фундаментальное понимание взаимосвязи сосудистой системы с опорно-двигательным аппаратом позволяет прогнозировать последствия травм, инфекций или нарушений кровообращения: например, компрессия вен при механических повреждениях или деформациях копытного рога может спровоцировать ишемию тканей, некроз сухожилий или костные деструкции, что требует неотложных хирургических вмешательств. Таким образом, комбинация фундаментальных знаний о вариабельности артериальной сети с пониманием физиологической значимости венозной системы создаёт основу для эффективных клинических решений в ветеринарной хирургии, подчеркивая необходимость продолжения исследований в области сравнительной ангиологии сельскохозяйственных животных [7-9].

Цель исследования – установить анатомо-топографические особенности вен суставов пальцев у свиньи породы йоркшир и определить морфометрические параметры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ со свиноводческого комплекса Ленинградской области.

Исследование проводили согласно периодизации жизни свиней: третья стадия развития – вторая молочная (22-45 дней постнатального периода). В исследовании использовали новорожденных поросят 28-30 дней постнатального периода онтогенеза. Исследовано 10 тазовых конечностей, полученных от пяти свиней породы йоркшир.

Возраст определяли по бонитировочным карточкам и со слов главного ветеринарного врача комплекса. Для достижения поставленной задачи были использованы традиционные морфологические методы исследования, а именно: тонкое анатомическое препарирование, фотографирование, вазорентгенография с морфометрией в программе «RadiAnt» [10-12].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе проведённых исследований было выявлено, что у свиней йоркширской породы отток крови от каждого пальца осуществляется через три вены: одну дорсальную и две плантарные. Эти сосуды служат поверхностными магистральями, собирая кровь из венозной сети копытца. Отдельную роль играют специализированные вены проксимальной и средней фаланг пальца, берущие начало во внутриорганных сплетениях костей, связок, сухожилий и суставных капсул. Данные структуры относятся к глубоким венам пальца и обеспечивают дренаж венозной крови из локальных зон. Глубокие вены образуют анастомотические кольца вокруг каждой фаланги, локализованные в средней части их тела. Эти кольцевые структуры объединяют дорсальные и плантарные венозные системы пальца, формируя замкнутую сеть. Таким образом, венозный отток организован по двум взаимосвязанным уровням: поверхностному (магистральные вены копытца) и глубокому (анастомозы, дренирующие внутренние ткани фаланг и суставов).

Третья и четвертая общая дорсальная пальцевая вена (*v. digitalis dorsalis communis* III, IV) – начинаются из венозного сплетения третьей фаланги, расположенного под венечным краем роговой капсулы копытца. На уровне середины второй фаланги они принимают дорсальные и дорсомедиальные вены второй фаланги, а на уровне середины первых фаланг медиальная и латеральная пальцевые вены сливаются в общую пальцевую дорсальную вену. Основной ствол дорсальных пальцевых вен образуют чаще три ветви, выходящие из латеральной, дорсальной и медиальной поверхностей венчика. В

каждой ветви, перед ее впадением в основной ствол, имеется двухкарамашковый клапан. Специальные вены второй и первой фаланг пальцев имеют устьевые клапаны в притоках I-III порядка.

Третья и четвертая общая плантарная пальцевая вена (*v. digitalis plantaris communis* III, IV) – их поверхностные ветви начинаются из терминальной венозной дуги третьей фаланги. В области венчика они принимают вены его латеральной части и вены мякиша. На уровне середины первых и вторых фаланг принимают: латеральные и плантарные вены этих фаланг и, поднимаясь проксимально, на уровне дистальных эпифизов плюсневых костей погружаются в межкостное пространство второго и пятого пальцев. Перед погружением в межкостное пространство она принимают соответственно, дорсальные вены II и V пальцев и отдают соединительные ветви к общей дорсальной вене.

Третья и четвертая общая плантарная пальцевая вена (*v. digitalis plantaris communis* III, IV) – их глубокие ветви начинаются из терминальной венозной дуги плантарной поверхности третьей фаланги, затем, поднимаясь проксимально по межпальцевому жёлобу, принимают вены мякишей, вены медиальной части венчика и специальные медиальные плантарные вены вторых и первых фаланг пальцев. На уровне середины первых фаланг латеральная и медиальная вены пальцев соединяются и образуют плантарную пальцевую общую вену, которая соединяется с дорсальной пальцевой общей веной через прободающую межпальцевую вену.

Венозная система суставов пальцев характеризуется равномерным распределением внутриорганных вен по суставной капсуле, при этом основной отток крови направлен в плантарные (подошвенные) пальцевые вены. Дорсальные вены суставов собирают кровь не только из самих суставов, но и из окружающих структур, таких как связки и кожа. Эти дорсальные пути менее развиты и служат вспомогательными дренажными каналами. Наибольшая плотность вен в суставной

капсуле наблюдается в местах её прикрепления к кости, формируя верхние и нижние венозные сплетения, опоясывающие суставную щель. Эти сплетения дают начало верхним и нижним венам капсулы.

В дистальной фаланге верхние и нижние вены капсулы равномерно распределены и соединяются короткими тонкими ветвями с венозным кольцом венчика. На сгибательной поверхности вены образуют сосуд, окружающий сесамовидную кость, направляя кровь латерально — во внешние плантарные вены, а медиально — во внутренние плантарные вены.

Для средней фаланги дорсальные вены проходят под сухожилием длинного разгибателя пальца к межпальцевой щели, впадая в дорсальные пальцевые вены под углом 45–50°. Латеральные нижние вены капсулы впадают в венозное кольцо второй фаланги, а латеральные верхние — соединяются с латеральной веной первой фаланги (проксимальный сегмент). Плантарные вены капсулы второй фаланги вместе с венами сухожилий сгибателей переходят на латеральную поверхность дистального конца первой фаланги, впадая в плантарные пальцевые вены.

Проксимальная фаланга имеет отдельную вену с плантарной и латеральной ветвями. Её короткий ствол соединяется под прямым углом с внешней плантарной пальцевой веной на уровне середины диафиза первой фаланги. Плантарная ветвь начинается из сплетения, образованного венами сухожильных влагалищ, верхними плантарными венами капсулы второй фаланги и нижними венами капсулы первой фаланги. Латеральная ветвь берёт начало на дорсальной поверхности первой фаланги из верхних вен капсулы второй фаланги и нижних вен капсулы первой фаланги. Верхние вены капсулы первой фаланги направляются к межпальцевой борозде, впадая в дорсальные глубокие плюсневые вены под углом 35–45°. Вены капсулы первой фаланги в области межпальцевой щели соединяются с дорсальными и плантарными общими пальцевыми венами, а также с прободающей плюсневой веной.

Такая организация обеспечивает структурированную венозную сеть, балансирующую основные и вспомогательные пути оттока крови через анатомические сегменты пальца.

Таблица 1 – Морфометрические показатели вен и их клапанов у свиней породы йоркшир

Наименование вены	Длина сосуда (см)	Диаметр сосуда (мм)	Количество клапанов (шт)	Клапанный индекс
Третья и четвертая общая дорсальная пальцевая вена	1,31±0,10	0,55±0,05	4	3,05
Третья и четвертая общая плантарная пальцевая вена (поверхностная ветвь)	2,44±0,30	1,00±0,10	6	2,46
Третья и четвертая общая плантарная пальцевая вена (глубокая ветвь)	1,89±0,20	0,95±0,10	5	2,64

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе исследования были установлены анатомо-топографические особенности вен суставов пальцев у свиньи породы йоркшир и определены морфометрические параметры. Знание анатомо-топографических особенностей вен суставов пальцев тазовой конечности у свиней необходимо для понимания их физиологической роли в поддержании гемодинамики, трофики тканей и адаптации к нагрузкам. Венозная система этой области обеспечивает не только отток крови, противодействие венозному застою при длительной статической нагрузке, а также в дренаже метаболитов из активно работающих мышц и суставных структур. Кроме того, вариабельность анатомии венозных коллатералей, их связь с глубокой и поверхностной системами кровообращения придают необходимость индивидуального подхода при проведении операций, назначении терапии и профилактике осложнений. Таким образом, интеграция знаний о сосудистой топографии с биомеханикой опорно-двигательного аппарата формирует основу для сохранения здоровья конечностей у свиней, минимизации экономических потерь и повышения эффективности ветеринарной помощи.

ANATOMICAL AND TOPOGRAPHIC FEATURES OF THE VEINS OF THE PIG'S FINGER JOINTS

Kicheeva T.G.^{*1} – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Preclinical Disciplines (ORCID 0009-0003-4874-5060); **Melnikov S.I.**² – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-0963-8751).

¹Upper Volga State Agrobiotechnological University

²St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* kafedra2020igsha@mail.ru

ABSTRACT

Damage or pathology of the venous bed in the area of the finger joints can lead to the development of edema, trophic disorders, secondary inflammatory processes and, as a result, lameness, which significantly reduces the mobility of animals and their productivity in industrial pig farming. A fundamental understanding of the relationship between the vascular system and the musculoskeletal system makes it possible to predict the consequences of injuries, infections, or circulatory disorders: for example, compression of veins in case of mechanical damage or deformity of the hoof horn can provoke tissue ischemia, tendon necrosis, or bone destruction, which requires urgent surgical interventions. The aim of the study was to establish the anatomical and topographic features of the veins of the finger joints in a Yorkshire pig and to determine the morphometric parameters. Cadaveric material for the study was delivered to the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State Pedagogical University from the pig breeding complex of the Leningrad region. The study was conducted according to the periodization of pig life: the third stage of development is the second milk stage (22-45 days of the postnatal period). The study used newborn piglets for 28-30 days of the postnatal period of ontogenesis. 10 pelvic limbs obtained from five Yorkshire pigs were examined. During the study, anatomical and topographic features of the veins of the finger joints in a Yorkshire pig were established and morphometric parameters were determined. Knowledge of the anatomical and topographic features of the veins of the joints of the fingers of the pelvic limb in pigs is necessary to understand their physiological role in maintaining hemodynamics, tissue trophism and adaptation to stress. The venous system of this area provides not only blood outflow, counteraction to venous stagnation during prolonged static load, as well as drainage of metabolites from actively working muscles and joint structures. In addition, the variability of the anatomy of venous collaterals and their connection with deep and superficial circulatory systems necessitate an

individual approach to surgery, therapy, and prevention of complications.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Маленьких, Н. А. Венозная васкуляризация туловища свиньи породы ландрас / Н. А. Маленьких, С. И. Мельников // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: материалы XI международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 24-25 ноября 2022 года. - Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. - С. 251-252. Щипакин, М. В.
2. Архитектоника венозного русла области бедра и голени собак / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, С. В. Вирунен, Д. С. Былинская // Образование, наука, практика: инновационный аспект: Сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной Дню российской науки, Пенза, 05–06 февраля 2015 года / ФГБОУ ВПО "Пензенская государственная сельскохозяйственная академия". Том II. – Пенза: Пензенская государственная сельскохозяйственная академия, 2015. – С. 207-209.
3. Щипакин, М.В. Скелетотопия вен стопы овец эдильбаевской породы / М. В. Щипакин // Сборник научных трудов XIV международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии в формате PARTNERS, Москва, 05–06 декабря 2024 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2025. – С. 445-449.
4. Возрастные изменения площади поперечного сечения I и II фаланг пальцев, их костномозговых полостей и компакты в постнатальном онтогенезе романовских овец / Е. А. Исаенков, М. С. Дюмин, Т. Г. Кичеева [и др.] // Аграрный вестник Верхневолжья. – 2019. – № 3(28). – С. 60-64.
5. Морфология и морфометрия костей

- плечевого пояса, звеньев стило- и зейгоподия грудной конечности выдры речной (Lutra lutra) / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленовский [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2017. – № 3(25). – С. 53-58.
6. Мамедкулиев, А. К. Анатомическая характеристика мышц области пальцев у овец породы дорпер / А. К. Мамедкулиев, М. В. Щипакин // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: сборник научных трудов № 150. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2019. – С. 25-26.
 7. Копейкина, М. Ю. Скелетотопия артерий кисти у свиней породы йоркшир в новорожденный период / М. Ю. Копейкина, М. В. Щипакин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 1. – С. 124-125.
 8. Патент № 2530159 С1 Российская Федерация, МПК А61К 49/04, А01N 1/02. Способ изготовления рентгеноконтрастной массы для вазорентгенографии при посмертных исследованиях животных: № 2013117666/13: заявл. 16.04.2013: опубл. 10.10.2014 / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская, С. А. Куга; заявитель ФГБОУ ВПО СПбГАВМ.
 9. Чумаченко, Б. В. Морфометрия пояса грудной конечности соболя черной пушкинской породы / Б. В. Чумаченко, М. В. Щипакин // Роль ветеринарной науки и образования в современном обществе: к 100-летию Витебской ордена "Знак Почета" государственной академии ветеринарной медицины: Материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 04–05 ноября 2024 года. – Витебск: Витебская государственная академия ветеринарной медицины, 2024. – С. 136-139.
 10. Щипакин, М. В. Закономерности развития костей периферического скелета собаки в пренатальный период онтогенеза / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленовский // Иппология и ветеринария. 2012. - № 1(3). - С. 92-93.
 11. Чумаченко, Б. В. возрастные особенности строения зейгоподия соболя черной

пушкинской породы в сравнительном аспекте / Б. В. Чумаченко, М. В. Щипакин, Я. О. Яволовская // Ветеринарная морфология и патология. – 2024. – № 4. – С. 43-50.

12. Былинская Д.С. Морфометрия фаланг пальцев стопы рыси евразийской / Былинская Д.С. // Материалы II Международного Ветеринарного Конгресса VETinstanbul Group-2015 Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины. 2015. – С. 74.

REFERENCES

1. Malykh N. A. Venous vascularization of the trunk of a Landrace pig // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: proceedings of the XI international scientific conference of students, post-graduates and young scientists, St. Petersburg, November 24-25, 2022. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022, pp. 251-252.
2. Architectonics of the venous bed of the thigh and shin area of dogs / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, S. V. Virunen, D. S. Bylinskaya // Education, science, practice: an innovative aspect: A collection of materials of the International scientific and practical Conference dedicated to the Day of Russian Science, Penza, 05-06 February 2015 / FSBEI HPE "Penza State Agricultural Academy". Volume II. Penza: Penza State Agricultural Academy, 2015, pp. 207-209.
3. Shchipakin, M. V. Skeletotopy of the foot veins of sheep of the Edilbaev breed / M. V. Shchipakin // Collection of scientific papers of the XIV International Interuniversity conference on Clinical Veterinary medicine in the PARTNERS format, Moscow, December 05-06, 2024. Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Scriabin", 2025, pp. 445-449.
4. Age-related changes in the cross-sectional area of the I and II phalanges of the fingers, their bone marrow cavities and compacts in the postnatal ontogenesis of Romanov sheep / E. A. Isaenkov, M. S. Dyumin, T. G. Kicheeva [et al.] // Agrarian Bulletin of the Upper Volga region. – 2019. – № 3(28). – Pp. 60-64.
5. Morphology and morphometry of the bones of the shoulder girdle, links of the stylo- and zygapodium of the thoracic limb of the river otter (*Lutra lutra*) / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2017. – № 3(25). – Pp. 53-58.
6. Mammadkuliyeu, A. K. Anatomical characteristics of the muscles of the finger area in Dorper sheep / A. K. Mammadkuliyeu, M. V. Shchipakin // Actual problems of veterinary medicine: collection of scientific papers No. 150. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2019. – pp. 25-26.
7. Kopeikina, M. Skeletotopy of the hand arteries in Yorkshire pigs in the newborn period / M. Y. Kopeikina, M. V. Shchipakin // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2017. – No. 1. – pp. 124-125.
8. Patent No. 2530159 C1 Russian Federation, IPC A61K 49/04, A01N 1/02. Method of manufacturing radiopaque mass for vasorentgenography in postmortem studies of animals: No. 2013117666/13: application 04/16/2013: published 10.10.2014 / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya, S. A. Kuga; applicant FSBEI HPE SPBGAVM.Chumachenko, B. V.
9. Morphometry of the thoracic limb belt of the black Pushkin sable / B. V. Chumachenko, M. V. Shchipakin // The role of veterinary science and education in modern society: on the 100th anniversary of the Vitebsk Order of the Badge of Honor of the State Academy of Veterinary Medicine: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, Vitebsk, November 04-05, 2024 of the year. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 2024, pp. 136-139.
10. Shchipakin, M. V. Patterns of bone development of the peripheral skeleton of a dog in the prenatal period of ontogenesis / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky // Hippology and veterinary medicine. 2012. – № 1(3). – Pp. 92-93.

11. Chumachenko, B. V. age-related structural features of the zeigopodium of the sable of the black Pushkin breed in a comparative aspect / B. V. Chumachenko, M. V. Shchipakin, Ya. O. Yavolovskaya // Veterinary morphology and pathology. - 2024. – No. 4. – pp. 43-50.

12. Bylinskaya D.S. Morphometry of the phalanges of the toes of the Eurasian lynx / Bylinskaya D.S. // Proceedings of the II International Veterinary Congress VETinstanbul Group-2015 St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine. 2015. – P. 74.12.

УДК: 619:616-076

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.215

АДАПТАЦИЯ ИФА НАБОРА ПРОДОКСИН-АФЛАТОКСИН В₁ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АФЛАТОКСИНА В₁ В ОРГАНАХ СВИНЕЙ

Панковец Е.М.* – магистр ветеринар. наук, асс. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0001-8482-700X); **Лях А.Л.** – канд. ветеринар. наук, зав. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0003-1255-4863).

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»

* pankovec.evgeniii@gmail.com

Ключевые слова: адаптация, микотоксины, афлатоксин В₁, иммуноферментный анализ.

Key words: adaptation, mycotoxins, aflatoxin В₁, enzyme immunoassay.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках научно-исследовательской работы по теме «Патоморфогенез микотоксикозной полиорганной недостаточности у свиней в онтогенезе».

Поступила: 25.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Микотоксины являются группой биологически активных веществ, попадание которых в организм сельскохозяйственных животных невозможно предотвратить полностью. В статье приводятся результаты экспериментальных исследований по адаптации набора ПРОДОКСИН ИФА-Афлатоксин В₁ для определения концентрации афлатоксина В₁ в гомогенатах печени свиней. В процессе пробоподготовки, печень гомогенизировалась и случайным образом делилась на навески массой 5 грамм. Методика основана на постановке прямого конкурентного иммуноферментного анализа, принцип действия которого заключается в избирательном связывании специфического антигена с антителом, который под действием фермента, в составе связанного с антителами конъюгата, превращается в окрашенный продукт. Суть комплекса мероприятий по адаптации данного метода заключается в использовании методики по поиску антигенов не в заявленном в инструкции растительном сырье, а в органах свиней. В статье приводятся подробные данные по пробоподготовке органов к исследованию, расчетам дозирования афлатоксина В₁, вносимых в гомогенат печени, а также описываются этапы постановки иммуноферментного анализа. Полученные в ходе эксперимента данные, по адаптации ИФА-набора для определения концентрации афлатоксина В₁ не только в растительном сырье, но и в гомогенатах печени свиней, позволяют сделать ряд выводов, где прямой конкурентный ИФА может быть использован в составе комплексной диагностики микотоксикозов в условиях сельскохозяйственных предприятий как экспресс метод для качественной (афлатоксин В₁ есть в органе/афлатоксина В₁ в органе нет) оценки

наличия афлатоксина В₁ в органах свиней. Так же учитывая погрешность измерения от 0 до 28% данный метод позволяет дать полуколичественную оценку содержания афлатоксина В₁ в гомогенате печени свиней. Так же мы отметили, чем ниже объем Афлатоксина В₁, вносимый в гомогенат печени, тем меньше погрешность при определении данных концентраций методом прямого конкурентного ИФА.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Микотоксины являются группой биологически активных веществ, попадание которых в организм сельскохозяйственных животных невозможно предотвратить полностью. Современные технологии кормозаготовки позволяют снизить концентрацию микотоксинов, а в случае обнаружения их в кормах специализированными диагностическими тестами, такими как иммуноферментный анализ (ИФА), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и другие, минимизировать неизбежный ущерб за счет введения сорбентов [1]. Во многих странах, в том числе в Республике Беларусь разработаны нормативные документы, в которых установлены предельно допустимые уровни (ПДУ) самых часто встречаемых микотоксинов в кормах. Однако данные нормативные документы не являются совершенными, так как регулируют довольно узкий спектр известных микотоксинов, а ПДУ данных микотоксинов не учитывают время поступления того или иного микотоксина в организм животных. Учитывая ряд вышенаписанных особенностей регулирования содержания микотоксинов в кормах, а также уже известные биологические особенности влияния микотоксинов на организм животных (кумулятивный эффект, синергизм и потенцирование патологических эффектов различных микотоксинов, термостабильность и практически полное отсутствие патогномоничных клинических симптомов при хроническом воздействии низких доз микотоксинов), существует высокая потребность в поиске новых диагностических возможностей [2]. Действительно, на протяжении последних лет отечественными учеными предпринимались попытки определения клинических, патологоанатомических и биохимических изменений в организме животных под действием микотоксинов [3,4]. Однако, определение

концентрации того или иного микотоксина только в корме и в последующем описание патологических изменений, выявленных в организме животного, которому этот корм скармливался, является недостаточной. Ведь не учитывается такой фактор как биодоступность, то есть какое именно количество микотоксина из общей концентрации воздействует на органы мишени, а сколько микотоксина выделилось из организма или инактивировалось в процессе метаболизма. Только выявляя концентрации микотоксинов в органах можно проследить стадийность патологоанатомических признаков, дозозависимые эффекты, а также определить, как влияют сверхнизкие концентрации микотоксинов поступающие в организм длительное время.

Для осуществления скрининговых исследований по определению микотоксинов в органах, наиболее подходящим из известных методов является ИФА, как менее дорогостоящий по сравнению с ВЭЖХ. Однако следует учитывать более низкую чувствительность и специфичность ИФА в сравнении с хроматографическими методиками. В зарубежных литературных источниках встречаются данные по определению отдельных микотоксинов в органах и биологических жидкостях с использованием ИФА в сравнении с ВЭЖХ, которые описывают возможность получения достоверных данных как при использовании хроматографических методов, так и ИФА [5,6]. При этом в Республике Беларусь не существует валидированной методики по проведению подобных исследований. Цель данной статьи показать результаты опыта по адаптации метода определения афлатоксина В₁ в комбикорме для определения афлатоксина В₁ в гомогенатах печени при помощи ИФА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Адаптация метода – это комплекс мероприятий, позволяющих усовершенствовать определенную, уже существующую, лабораторную методику и использовать ее для выполнения других задач. В качестве лабораторного метода по определению микотоксинов в органах и тканях, был выбран прямой конкурентный иммуноферментный анализ, как более распространенный и доступный метод в большинстве лабораторий страны. Тесты проводились с использованием набора ПРОДОСКРИН ИФА-Афлатоксин В₁, предназначенный для детекции афлатоксина В₁ в комбикормах, разработанный институтом биоорганической химии НАН Беларуси (рисунок 1).



Рисунок 1 – Набор ПРОДОСКРИН ИФА-Афлатоксин В₁.



Рисунок 2 – Образцы печени в процессе пробоподготовки.

Основным исследуемым материалом являлся образец печени свиньи, так как именно печень является основным органом мишенью для афлатоксина В₁ [7]. Материал (печень целиком) отбирали от одного животного на убойном пункте. В процессе пробоподготовки, печень гомогенизировалась и случайным образом делилась на навески массой 5 грамм (рисунок 2).

После этого в каждый образец добавлялся стандарт афлатоксина В₁ (Trilogy 25 мкг\мл, с заявленной в инструкции погрешностью +/- 1,96 мкг\мл, объём 10 мл) (рисунок 3) в следующих объемах (таблица 1).

Вышеописанные концентрации стандарта были выбраны исходя из чувствительности данного метода (2 мкг\кг). Также проводилось тестирование набора сверх диапазона измерения (предел обнаружения Афлатоксина В₁ методом ИФА от 2 мкг\кг до 50 мкг\кг), указанного в инструкции (100 мкг\кг и 250 мкг\кг соответственно). Контролем выступали образцы гомогената печени без внесения стандарта, а также образец чистого стандарта в концентрации 50 мкг\кг без тканей печени. Необходимый объём вносимого стандарта Афлатоксина В₁ в гомогенат печени рассчитывали согласно следующей формулы:

Для концентрации 5 мкг\кг:

1 кг гомогената печени – 5 мкг афлатоксина В₁

0,005 кг гомогената печени (5 грамм) – **0,025 мкг** афлатоксина В₁

2) 1 мл (1000 мкл) стандарта – 25 мкг афлатоксина В₁

1 мкл стандарта – 0,025 мкг афлатоксина В₁

Чтобы получить концентрацию афлатоксина В₁ 5 мкг\кг в навеске печени 5 г, необходимо внести 1 мкл аналитического стандарта афлатоксина В₁ (рисунок 4). Для эмпирического создания в гомогенатах печени концентрации 25, 40, 50, 100 и 250 мкг\кг использовали аналогичные расчеты.

Таблица 1 – Объем вносимого стандарта Афлатоксина В₁ и эмпирически получаемая концентрация микотоксина в гомогенате печени свиньи

Объем вносимого стандарта Афлатоксина В ₁ , мкл	Концентрация Афлатоксина В ₁ , эмпириче- ски создаваемая в гомогенате печени массой 5 грамм, мкг\кг
1	5
5	25
8	40
10	50
20	100
50	250

Далее проводилась постановка прямого конкурентного ИФА согласно стандартной инструкции к набору: афлатоксин В₁ экстрагируют из гомогената раствором метанол/вода в соотношении 70/30. В лунки планшета для предварительного смешивания вносят конъюгат афлатоксина В₁ с пероксидазой из корней хрена, добавляют градуировочные растворы с известной концентрацией афлатоксина В₁ или подготовленные к анализу растворы проб и аликвоты полученной смеси переносят в лунки планшетного иммуносорбента. Во время последующей инкубации афлатоксин В₁ в составе градуировочного раствора или анализируемой пробы конкурирует с конъюгатом за связывание с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок иммуносорбента. После промывки, в ходе которой из лунок удаляют не прореагировавшие с антителами микотоксины, добавляют хромоген-субстратный раствор, который под действием фермента в составе, связанного с антителами конъюгата превращается в окрашенный продукт. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации афлатоксина В₁ в анализируемом образце или градуировочном растворе, т.е. чем больше содержится афлатоксина В₁, тем меньше конъюгата связывается с антителами на твердой фазе. Затем добавляют стоп-реактив, останавливающий ферментативную реакцию и одновременно изменяющий окраску раствора с голубой на желтую. Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на многоканальном

планшетном фотометре как величину оптической плотности, выраженную в оптических единицах (о.е.), при длине волны 450 нм. На основании значений оптической плотности компьютерная программа строит градуировочный график и автоматически рассчитывает концентрации афлатоксина В₁ в исследуемых образцах [9].

Для оценки взаимосвязи между вносимым в гомогенат печени объемом микотоксина и получаемой концентрацией афлатоксина В₁ при помощи ИФА, был рассчитан коэффициент корреляции Пирсона (r) и p-значение.

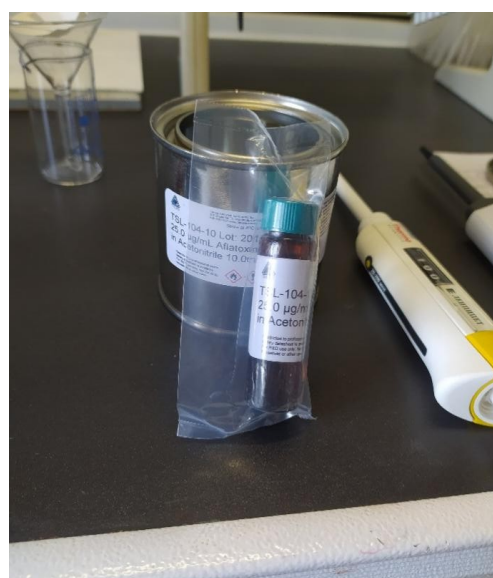


Рисунок 3 – Стандарт Афлатоксина В₁, 25 мкг\мл, 10 мл.



Рисунок 4 – Этапы пробоподготовки. Внесение стандарта в гомогенат печени свиньи.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

В таблице 2 представлены полученные концентрации Афлатоксина В₁ в гомогенатах печени в ходе проведения иммуноферментного анализа с добавлением заведомо известного количества микотоксина. Анализируя выявленные значения, следует отметить, что существует ряд определенных, статистически значимых закономерностей (рисунок 5).

Действительно, при повышении количества вводимого микотоксина в печень, повышаются определяемые ИФА значения, содержащиеся в полученных экстрактах исследуемой печени ($r = 0.98$, $p < 0.04$). Концентрация 250 мкг\кг не вошла в расчет линейной корреляции, т.к. получены недостоверные результаты измерений.

При этом существуют некоторые отклонения между внесенной и определяемой при помощи ИФА концентрацией афлатоксина В₁. При внесении в гомогенат печени 25, 40 и 50 мкг\кг афлатоксина В₁, получили 35, 51,2 и 56,9 мкг\кг соответственно, что на 28,6%, 21,9% и 12,1% превышает концентрацию вносимого стандарта. При оценке контрольного образца, такого как чистый гомогенат печени без добавления стандарта микотоксина получили 2,1 мкг\кг афлатоксина В₁. Другой контрольный образец, без тканей печени, показал 69,4 мкг\кг афлатоксина В₁, что на 28 % превышает исходную объем

вносимого стандарта 50 мкг\кг. Данные отклонения можно объяснить следующим образом:

1) Заявленной производителем погрешностью $\pm 1,96$ мкг\мл аналитического стандарта афлатоксина В₁ используемого в эксперименте, что составляет $\pm 7,84\%$ от 25 мкг\мл.

2) Дополнительное содержание афлатоксина В₁ в гомогенате печени свиньи до внесения аналитического стандарта приводит к увеличению результатов при проведении ИФА.

3) Согласно свидетельству о метрологической пригодности методики выполнения измерений № 1064МПП/2017 «Определение массовой доли афлатоксина В₁ в зерне, зернобобовых и масличных культурах с использованием набора реагентов «ИФА-АФЛАТОКСИН»», относительная расширенная неопределенность (величина, которая характеризует разброс измеряемых значений относительной истинного показателя) составила от 16% до 26% в зависимости от группы продуктов.

Важным наблюдением является то, что более низкие объемы вносимого стандарта (близкие к нижнему порогу диапазона измерений от 2 до 50 мкг\кг), позволяют получать более точные измерения при постановке ИФА с минимальными отклонениями (при внесении в гомогенат печени 5 мкг\кг афлатоксина В₁, при измерении получили аналогичное значение 5 мкг\кг). Учитывая, что основной целью данного исследования являлся поиск новых диагностических возможностей при субклинических микотоксикозах, которые развиваются при длительном поступлении в организм сверхнизких доз микотоксинов, метод прямого конкурентного ИФА является перспективным в данном направлении.

Таблица 2 – Результаты эксперимента по адаптации ИФА метода по определению афлатоксина В₁ в гомогенате печени свиньи

№ п\п	Концентрация стандарта внесенная в гомогенат печени, мкг\кг	Масса пробы печени, г/объем вносимого стандарта, мкл	Фактически полученные значения после постановки ИФА, мкг\кг
1	5,0	5,0/1	5,0
2	25,0	5,0/5	35,0
3	40,0	5,0/8	51,2
4	50,0	5,0/10	56,9
4	100	5,0/20	99,7
4	250	5,0/50	98,9
4	Печень без стандарта	5,0/0	2,1
4	50,0 стандарта, без тканей печени	0/50	69,4

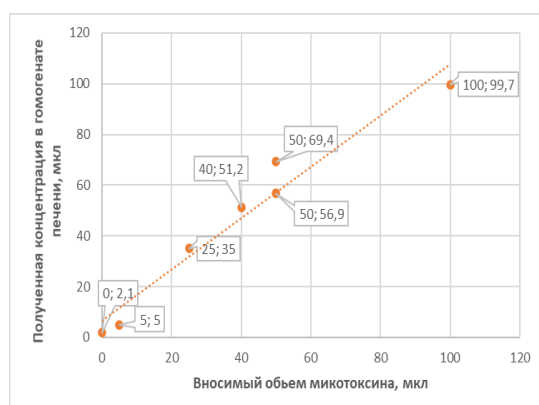


Рисунок 5 – Линейная зависимость определенной при помощи ИФА концентрации микотоксина, от введенного объема афлатоксина В₁ в гомогенат печени свиньи

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Полученные в ходе эксперимента данные, по адаптации ИФА-набора для определения концентрации афлатоксина В₁ не только в растительном сырье, но и в гомогенатах печени свиней, позволяют сделать ряд выводов:

1. Прямой конкурентный ИФА может быть использован в составе комплексной диагностики микотоксикозов в условиях сельскохозяйственных предприятий как экспресс метод для качественной (афлатоксин В₁ есть в органе\афлатоксина В₁ в органе нет) оценки наличия афлатоксина В₁ в органах свиней.

2. Учитывая погрешность измерения от 0 до 28% данный метод позволяет дать полуколичественную оценку содержания афлатоксина В₁ в гомогенате печени сви-

ней.

3. Чем ниже объем Афлатоксина В₁, вносимый в гомогенат печени, тем меньше погрешность при определении данных концентраций методом прямого конкурентного ИФА.

ADAPTATION OF THE PRODOX-IN-AFLATOXIN B₁ ELISA KIT FOR DETERMINING AFLATOXIN B₁ CONCENTRATION IN PIGS' ORGANS

Pankovets E.M.* – Master of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0001-8482-700X); **Lyah A.L.** – Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0003-1255-4863).

Educational Establishment "Vitebsk

State Awarded the "Badge of Honor" Order
Veterinary Medicine Academy"

* Pankovec.evgeniii@gmail.com

Financing: *The materials were prepared as part of the research work on the topic "Pathomorphogenesis of mycotoxicosis multiple organ failure in pigs during ontogenesis".*

ABSTRACT

Mycotoxins are a group of biologically active substances, the penetration of which into the organism of farm animals cannot be completely prevented. The article presents the results of experimental studies on the adaptation of the PRODOSCREEN IFA-Aflatoxin B1 kit for determining the concentration of aflatoxin B1 in pig liver homogenates. The material (whole liver) was collected from one animal at a slaughterhouse. During sample preparation, the liver was homogenized and randomly divided into 5-gram portions. The technique is based on the formulation of a direct competitive enzyme immunoassay, the principle of which is the selective binding of a specific antigen to an antibody, which, under the action of an enzyme, as part of an antibody-bound conjugate, turns into a colored product. The essence of the set of measures for the adaptation of this method is to use the technique for searching for antigens not in the plant materials declared in the instructions, but in the organs of pigs. The article provides detailed data on the preparation of organ samples for the study, calculations of aflatoxin B1 dosages introduced into the liver homogenate, and describes the stages of setting up an enzyme immunoassay. The data obtained during the experiment on the adaptation of the ELISA kit for determining the concentration of aflatoxin B1 not only in plant materials, but also in pig liver homogenates, allow us to draw a number of conclusions where direct competitive ELISA can be used as part of a comprehensive diagnosis of mycotoxicoses in agricultural enterprises as an express method for qualitative (aflatoxin B1 is in the organ / aflatoxin B1 is not in the

organ) assessment of the presence of aflatoxin B1 in pig organs. Also, taking into account the measurement error from 0 to 28%, this method allows for a semi-quantitative assessment of the content of aflatoxin B1 in pig liver homogenate. We also noted that the lower the volume of Aflatoxin B1 introduced into the liver homogenate, the lower the error in determining these concentrations using the direct competitive ELISA method.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Науменко Н. В., Ботвинникова В. В., Сотникова В., Грживна Л., Белоглазова Н. В. Микотоксины и безопасность продуктов питания: явные и скрытые угрозы // Вестник ЮжноУральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2020. № 1. – С. 105-111. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikotoksiny-i-bezopasnost-produktov-pitaniya-yavnye-i-skrytye-ugrozy/viewer>
2. Солдатенко, Н. А. Роль микотоксинов в этиологии массовых заболеваний свиней / Н. А. Солдатенко, Л. Н. Фетисов, Н. В. Стрельцов, В. А. Русанов, А. В. Коваленко // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарного обеспечения Российского животноводства». – Новочеркасск. – 2010. – С. 112-118.
3. Иваницкий М. Е., Ображей А. Ф., Рухляда В. В., Котик А. Н. Патоморфологическая диагностика микотоксикозов свиней // Материалы Всероссийской научно-методической конференции патологоанатомов ветеринарной медицины: Сб. науч. тр. / ОГМА. – Омск. – 2000. С. 85.
4. Григорян А. В., Карапетян А. Ф., Дживанян К. А. Об особенностях гистоморфологии печени при поступлении с кормом микотоксинов. // Успехи медицинской микологии. – Т.12. – Национальная академия микологии. – 2014. – С. 166-168.
5. Панковец, Е. М. Использование иммуноферментного анализа для определения концентрации микотоксинов в органах, тканях и биологических жидкостях (обзор) / Е. М. Панковец, А. Л. Лях // Актуальные проблемы лечения и профилак-

тики болезней молодняка: материалы Международной научно-практической конференции (Витебск, 2-4 ноября 2020 г.) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии. – Витебск: ВГАВМ. – 2020. – С. 104-108. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44579081>

6. Сайфутдинов, А. М. Определение микотоксинов в органах и тканях животных методом хромато-масс-спектрометрии / А. М. Сайфутдинов, Д. Н. Бузюрова, И. М. Фицев // Современные проблемы экспериментальной и клинической токсикологии, фармакологии и экологии: Сборник тезисов докладов Международной научно-практической конференции, Казань, 09-10 сентября 2021 года. – Казань: Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности. – 2021. – С. 133-135. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48038786>

7. Чернова А.В., Петроченкова А.В. Современные методы определения контаминации молока афлатоксином М1 // Научные труды Дальрыбвтуза. – 2022. – Т. 62, № 4. – С. 25-33.

8. Sun L.H., Lei M.Y., Zhang N.Y., Gao X., Li C., Krumm C.S., Qi D.S. Individual and combined cytotoxic effects of aflatoxin B1, zearalenone, deoxynivalenol and fumonisin B1 on BRL 3A rat liver cells. *Toxicon*, – 2015, – P. 6-12. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25549941/>

9. Вашкевич И. И., Терентьева Т. В., Корнилович Г. С., Сухенко Л. Н., Шибeko А. И., Свиридов О. В. Новый набор реагентов для иммуноферментного определения афлатоксина в1 в кормах и пищевых продуктах // Вестник национальной академии наук Беларуси. Серия: Химические науки. – 2016. – № 2. – С. 69-76. Режим Доступа: https://vestichem.belnauka.by/jour/article/view/196?locale=ru_RU

REFERENCES

1. Naumenko N.V., Botvinnikova V.V., Sotnikova V., Grzhivna L., Beloglazova N.V.

Mycotoxins and food safety: obvious and hidden threats // Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology. – 2020. No. 1. – P. 105-111. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikotoksiny-i-bezopasnost-produktov-pitaniya-yavnye-iskrytye-ugrozy/viewer> (in Russ.).

2. Soldatenko N.A. The role of mycotoxins in the etiology of mass diseases of pigs / N.A. Soldatenko, L.N. Fetisov, NV Streltsov, VA Rusanov, AV Kovalenko // Materials of the All-Russian Scientific Conference «Actual problems of veterinary support of Russian livestock». – Novocherkassk. – 2010. – P. 112-118

3. Ivanitsky M.E., Obrazhey A.F., Rukhlyada V.V., Kotik A.N. Pathomorphological diagnostics of mycotoxicoses in pigs // Proceedings of the All-Russian scientific and methodological conference of pathologists of veterinary medicine: Collection of scientific papers / OSMU. – Omsk. – 2000. – P. 85. (in Russ.).

4. Grigoryan A.V., Karapetyan A.F., Dzhivanyan K.A. On the features of liver histomorphology upon intake of mycotoxins with feed. // *Advances in Medical Mycology*. – V.12. – National Academy of Mycology, 2014. – P. 166-168. (in Russ.).

5. Pankovets, E. M. Use of enzyme-linked immunosorbent assay to determine the concentration of mycotoxins in organs, tissues and biological fluids (review) / E. M. Pankovets, A. L. Lyakh // Actual problems of treatment and prevention of diseases of young animals: materials of the International scientific and practical conference (Vitebsk, November 2-4, 2020) / Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy. – Vitebsk: VGAVM, – 2020. – P. 104-108. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44579081> (in Russ.).

6. Saifutdinov, A. M. Determination of mycotoxins in animal organs and tissues by chromatography-mass spectrometry / A. M. Saifutdinov, D. N. Buzyurova, I. M. Fitsev // Modern problems of experimental and clinical toxicology, pharmacology and ecology: Collection of abstracts of reports of the In-

ternational scientific and practical conference, Kazan, September 9-10, – 2021. – Kazan: Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, – 2021. – P. 133-135. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48038786> (in Russ.).

7. Chernova A.V., Petrochenkova A.V. Modern methods for determining the contamination of milk with aflatoxin M1. Scientific Journal of the Far Eastern State Technical Fisheries University. – 2022. – T. 62, № 4 – P. 25-33. (in Russ.).

8. Sun L.H., Lei M.Y., Zhang N.Y., Gao X., Li C., Krumm C.S., Qi D.S. Individual and combined cytotoxic effects of aflatoxin B1,

zearalenone, deoxynivalenol and fumonisin B1 on BRL 3A rat liver cells. Toxicon, 2015, – P. 6-12 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25549941/>

9. Vashkevich I. I., Terentyeva T. V., Kornilovich G. S., Sukhenko L. N., Shibeko A. I., Sviridov O. V. New set of reagents for enzyme-linked immunosorbent assay of aflatoxin B1 in feed and food products // Bulletin of the National Academy of Sciences of Belarus. Series: Chemical Sciences. – 2016. – № 2. – P. 69-76. URL: https://vestichem.belnauka.by/jour/article/view/196?locale=ru_RU (in Russ.).

УДК: 005:611.132.2:599

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.224

СИСТЕМАТИЗАЦИЯ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ СЕРДЦА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Хватов В.А. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0001-5799-0816); **Былинская Д.С.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0001-9997-5630).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

* spbguvvm@vkhvatov.ru

Ключевые слова: коронарные артерии сердца, млекопитающие, животные, васкуляризация, номенклатура, систематизация.

Key words: coronary arteries of the heart, mammals, animals, vascularization, nomenclature, systematization.

Поступила: 28.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты систематизации коронарного русла сердца у 12 видов млекопитающих (домашние, сельскохозяйственные, промысловые и пушные животные). Цель работы – систематизировать данные по коронарному руслу млекопитающих, создать анатомическую номенклатуру по их ветвям, а также стандартизировать типы кровоснабжения сердца у изучаемых видов животных. Для проведения исследования изучалось ветвление коронарного русла сердца сельскохозяйственных (бык домашний, коза домашняя, овца домашняя, свинья домашняя, лошадь домашняя), промысловых животных (медведь бурый, свинья дикая), пушных зверей (лисица обыкновенная, соболь черной пушкинской породы, рысь евразийская) и домашних плотоядных (кошка домашняя, собака домашняя). Материал был взят из частных ветеринарных клиник города Санкт-Петербурга и Ленинградской области, пушных и звероводческих хозяйств, охотничьих угодий и частных приусадебных хозяйств Ленинградской области. Методиками для исследования служили вазорентгенография, тонкое анатомическое препарирование, изготовление коррозионных препаратов. На основе анализа анатомических препаратов и вазорентгенографии выявлены недостатки существующей Международной анатомической номенклатуры, которая не учитывает функциональную значимость и вариабельность сосудов сердца. Предложена новая классификация, включающая уточнение терминов, введение названий для ранее неописанных сосудов, стандартизацию типов кровоснабжения с учетом видовых особенностей. Установлено, что у кабана, лошади и домашней свиньи преобладают правовенечный и равномерный типы васкуляризации, тогда как у жвачных, кошек, собак и пушных зверей доминирует левовенечный тип. Результаты позволяют унифицировать терминологию, упростить диагностику сердечно-сосудистых патологий и внедрить данные в учебные программы ветеринарных вузов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Изучая артериальные магистрали сосудистого русла сердца млекопитающих животных, мы неоднократно сталкивались с такой проблемой, что в Международной анатомической номенклатуре отсутствуют наименования многочисленных ветвей левой и правой коронарных артерий, которые, на наш взгляд, играют главенствующую роль в кровоснабжении важных структур сердца [1-3]. За годы нашей работы нами исследованы такие животные, как сельскохозяйственные (бык домашний, коза домашняя, овца домашняя, свинья домашняя, лошадь домашняя), промысловые животные (медведь бурый, свинья дикая), пушные звери (лисица обыкновенная, соболь черной пушкинской породы, рысь евразийская) и домашние плотоядные (кошка домашняя, собака домашняя) [4-6]. Полученные нами за эти годы данные требуют обобщения и систематизации для более доступного и лёгкого понимания анатомии сосудистой системы сердца, а также внедрения этих данных в учебные процессы аграрных вузов, ветеринарные клиники, сельские хозяйства, пушные и звероводческие хозяйства Российской Федерации [7-9]. В связи с этим цель нашей работы – систематизировать данные по коронарному руслу млекопитающих, создать анатомическую номенклатуру по их ветвям, а также стандартизировать типы кровоснабжения сердца у изучаемых видов животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для проведения исследования изучалось ветвление коронарного русла сердца сельскохозяйственных (бык домашний, коза домашняя, овца домашняя, свинья домашняя, лошадь домашняя), промысловых животных (медведь бурый, свинья дикая), пушных зверей (лисица обыкновенная, соболь черной пушкинской породы, рысь евразийская) и домашних плотоядных (кошка домашняя, собака домашняя).

Материал был взят из частных ветеринарных клиник города Санкт-Петербурга

и Ленинградской области, пушных и звероводческих хозяйств, охотничьих угодий и частных приусадебных хозяйств Ленинградской области [10-12].

Методиками для исследования служили вазорентгенография, тонкое анатомическое препарирование, изготовление коррозионных препаратов [13-15].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В пятой редакции Международной анатомической номенклатуры из артерий сердца представлены такие наименования, как:

- правая коронарная артерия;
- субсинусная межжелудочковая ветвь;
- перегородковые ветви;
- левая коронарная артерия;
- окружная ветвь;
- промежуточная ветвь (краевая ветвь левого желудочка);
- паракопальная межжелудочковая ветвь;
- перегородковые ветви.

Если разбирать каждое наименование, то можно сделать следующие выводы, что из всех перечисленных названий, практическое и теоретическое применение имеют только правая и левая коронарные артерии, а также окружная ветвь, субсинусная и паракопальная межжелудочковые ветви.

Перегородковые ветви не отражают в действительности области и участки сердца, которые они кровоснабжают. Также из-за высокой варибельности сосудов сердца, перегородковые ветви могут объединяться в крупную магистраль либо же оставаться в виде многочисленных мелких ветвей.

Промежуточная ветвь (краевая ветвь левого желудочка) чаще используется при описании кровоснабжения сердца, но она также может отсутствовать у многих видов млекопитающих, а также называется чаще, как диагональная артерия, и не соответствовать топографически краю левого желудочка.

В связи с тем, что в номенклатуре многочисленная вариация ветвей артерий сердца, мы, исследуя кровоснабжения

данного органа у млекопитающих разработали следующую классификацию.

Левая коронарная артерия, как только отходит от устья аорты, сразу делится на окружную и левую паракональную артерии. Мы предлагаем окружную и паракональные ветви называть именно артериями, так как они, во-первых, незначительно уступают по диаметру левой коронарной артерии, а, во-вторых, левая коронарная артерия имеет незначительную длину и, в свою очередь, служит началом для вышеуказанных магистралей. Также мы предлагаем субсинусозную ветвь называть тоже артерией, поскольку она является параллельной магистралью паракональной артерии, и может принадлежать как левой коронарной артерии, так и правой. Также мы считаем уместным уточнить в названии паракональной и субсинусозной артерий их поверхности, убрав прилагательное «межжелудочковое», так как они обе идут по одноименным бороздам, которые являются наружной границей между правым и левым желудочками. И в связи с этим, нам кажется, что уместнее в название данных сосудов указывать правая субсинусозная и левая паракональная артерии. Далее от окружной артерии отходят многочисленные ветви, которые кровоснабжают левое предсердие, левое сердечное ушко и левый желудочек. В связи с участками их кровоснабжения, мы предлагаем называть их, соответственно: левые предсердные ветви, левые аурикулярные артерии и левые вентрикулярные ветви. Левые предсердные ветви у исследуемых особей чаще всего достаточно мелкие и отходят на протяжении всей окружной артерии в количестве от трех до шести штук, кровоснабжая стенку левого предсердия.

Если говорить про левые аурикулярные артерии, то их, мы считаем, можно называть артериями, так как на фоне предсердных ветвей они имеют более значительные диаметр и длину. Также мы их называли аурикулярные, от латинского слова *auricula* – ушко, так как они васкуляризируют левое сердечное ушко, соответственно.

Левые вентрикулярные артерии также отходят на всем протяжении окружной артерии в количестве от четырех до восьми штук, и кровоснабжают стенку левого желудочка, в связи с чем мы их и назвали вентрикулярные, от слова *venter* – желудочек. Мы предлагаем их также называть артериями, потому что они имеют в сравнении с предсердными ветвями тоже большие диаметр и длину.

Также от окружной артерии могут отходить артерия левого предсердия, которая названа так в связи со своим направлением в сторону стенки левого предсердия. Данный сосуд может встречаться у некоторых млекопитающих, особенно у тех, у которых наблюдается левовенечный тип кровоснабжения. Данная артерия огибает устье аорты и достигает стенки правого желудочка, разветвляясь в области синоатриального узла проводящей системы сердца. В связи с чем, мы считаем, что данный сосуд является значим для кровоснабжения сердца, и ему стоит уделять особое внимание.

Диагональная артерия также может отходить от окружной артерии, и направляется косо вентрокаудально в сторону верхушки сердца, кровоснабжая стенку левого желудочка. Обычно, если данный сосуд присутствует, он имеет достаточно большой диаметр по сравнению с окружающими его ветвями. В связи с чем, он оправдывает свое название.

От окружной артерии также может отходить правая субсинусозная артерия, и в этом месте также отходит левая анастомотическая ветвь, которая направляется к одноименной ветви правой коронарной артерии. Данные сосуды так названы, потому что в этом месте мы предполагаем происходит анастомоз между ветвями правой и левой коронарными артериями, так как они подходят близко друг к другу и переплетаются между собой мелкими ветвями. Также от левой анастомотической ветви отходит атриовентрикулярная ветвь, которая так названа, потому что направляется в область атриовентрикулярного узла проводящей системы сердца, и выполняет важную функцию в его кровоснабжении.

Таблица №1 – Типы ветвления артерий сердца млекопитающих

Вид животного	Тип кровоснабжения
Бык домашний	Левовенечный
Свинья домашняя	Правовенечный/равномерный
Дикая свинья (кабан)	Равномерный / правовенечный
Лошадь	Правовенечный /равномерный
Кошка домашняя	Левовенечный / равномерный
Домашняя собака	Левовенечный
Соболь	Левовенечный
Лисица обыкновенная	Левовенечный
Рысь евразийская	Равномерный / левовенечный
Бурый медведь	Левовенечный / Равномерный
Домашняя коза	Левовенечный
Домашняя овца	Левовенечный

От правой субсинусозной артерии и левой паракопальной артерии отходят похожие ветви, которые кровоснабжают стенку правого и левого желудочка соответственно. Данные ветви идут на протяжении всей магистрали, в связи с чем мы их разделяем на проксимальные, средние и дистальные. Таким образом, от левой паракопальной артерии и правой субсинусозной артерии отходят проксимальные, средние и дистальные ветви миокарда левого и правого желудочков соответственно.

Также от левой паракопальной артерии отходят ветви в сторону правого желудочка, а от правой субсинусозной артерии – в сторону левого. Эти ветви мы назвали ветвями миокарда правого и левого желудочков соответственно. Также от левой паракопальной артерии проксимально отходят ветви к артериальному конусу правого желудочка, в связи с чем они получили название левые конусные ветви. Такие же конусные ветви отходят от правой коронарной артерии, и называ-

ются правыми конусными ветвями.

От левой паракопальной артерии отходит у животных с левовенечным типом кровоснабжения левая межжелудочковая артерия, которая погружается в межжелудочковую перегородку. Данный сосуд имеет важное значение, так как он кровоснабжает не только перегородку, но и важные элементы проводящей системы сердца (пучок Гиса, правую ножку пучка Гиса).

Левая анастомотическая ветвь отдает следующие ветви: дорсальные, вентральные, правую септомаргинальную (идет по одноименной трабекуле), правая атрио-вентрикулярная (идет к правому атрио-вентрикулярному отверстию).

Также левая паракопальная артерия делится на ветви в области верхушки сердца, которые мы назвали терминальные (концевые).

Помимо этого, мы установили данные по типам ветвления коронарных артерий у млекопитающих (таблица 1).

Таблица №2 – Наименования ветвей коронарных артерий сердца млекопитающих

Левая коронарная артерия	Окружная артерия	Левые предсердные ветви	
		Левые вентрикулярные артерии	
		Левые аурикулярные артерии	
		<i>Левая диагональная артерия*</i>	
		<i>Артерия левого предсердия*</i>	
		Левая анастомотическая ветвь	Атриовентрикулярная ветвь
		<i>Левая субсингуозная артерия*</i>	Ветви миокарда правого желудочка
			Ветви миокарда левого желудочка
	Левая параконая артерия	Левая межжелудочковая артерия	Правая септомаргинальная артерия
			Правая атриовентрикулярная ветвь
			Дорсальные ветви
			Вентральные ветви
			Левые конусные ветви
			<i>Артерия левого предсердия*</i>
			<i>Левая диагональная артерия*</i>
			Проксимальные ветви миокарда левого желудочка
			Средние ветви миокарда левого желудочка
Правая коронарная артерия	Правые конусные ветви		Дистальные ветви миокарда левого желудочка
	Правая аурикулярная ветвь		Ветви миокарда правого желудочка
	Правые предсердные ветви		Терминальные ветви
	Правые вентрикулярные ветви		
	Правая анастомотическая ветвь		
	Ветви миокарда правого желудочка	Проксимальные ветви миокарда правого желудочка	
	<i>Правая субсингуозная артерия*</i>	Средние ветви миокарда правого желудочка	
		Дистальные ветви миокарда правого желудочка	
		Ветви миокарда левого желудочка	

**Сосуды, которые имеют вариативность в зависимости от типа кровоснабжения сердца, и в связи с этим могут принадлежать к разным магистральям.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

По данным исследования можно сделать следующие выводы: термины Международной анатомической номенклатуры не отражают реальную топографию и функцию многих сосудов сердца (например, «перегородочные ветви»); отсутствует единый подход к классификации мелких артерий, что затрудняет сравнительные исследования. Предложена стандартизация артерий сердца, введены

новые и уточнены старые термины. Уточнена роль анастомозов и магистралей, выявлена видоспецифичность типов кровоснабжения. Разработанная классификация упрощает диагностику сердечно-сосудистых патологий у животных. В будущем требуется расширение выборки для уточнения типов кровоснабжения у редких видов. Необходима интеграция предложенной номенклатуры в международные стандарты.

SYSTEMATIZATION OF CORONARY ARTERIES OF THE HEART OF MAMMALS

Khvatov V.A. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0001-5799-0816); **Bylinskaya D.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0001-9997-5630).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* spbguvn@vkhvatov.ru

ABSTRACT

The article presents the results of systematization of the coronary artery of the heart in 12 species of mammals (domestic, agricultural, commercial and fur-bearing animals). The aim of the work is to systematize data on the mammalian coronary bed, create anatomical nomenclature for their branches, and standardize the types of blood supply to the heart in the studied animal species. To conduct the study, we studied the branching of the coronary heart of agricultural (domestic bull, domestic goat, domestic sheep, domestic pig, domestic horse), commercial animals (brown bear, wild pig), fur-bearing animals (common fox, black Pushkin sable, Eurasian lynx) and domestic carnivores (domestic cat, domestic dog). The material was taken from private veterinary clinics in St. Petersburg and the Leningrad region, fur and fur farms, hunting grounds and private homesteads in the Leningrad region. The methods for the study were vasorentgenography, fine anatomical dissection, and the manufacture of corrosive preparations. Based on the analysis of anatomical preparations and vasorentgenography, the shortcomings of the existing International Anatomical Nomenclature have been identified, which does not take into account the functional significance and variability of heart vessels. A new classification is proposed, including the clarification of terms, the introduction of names for previously undescribed vessels, and the standardization of blood supply

types, taking into account specific features. It was found that in wild boar, horse, and domestic pig, the right-handed and uniform types of vascularization predominate, while in ruminants, cats, dogs, and fur-bearing animals, the left-handed type dominates. The results make it possible to unify terminology, simplify the diagnosis of cardiovascular pathologies, and integrate the data into the curricula of veterinary universities.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Зеленовский, Н. В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латинском и русском языках. *Nomina Anatomica Veterinaria*. (пятая редакция): Учебники для вузов. Специальная литература / Н. В. Зеленовский; пер. и рус. терминология Н. В. Зеленовского. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2013. – 400 с.
2. Слесаренко, Н. А. Морфология животных: Учебная практика / Н. А. Слесаренко, Р. Ф. Капустин, Н. Ю. Старченко. – Майский: Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина, 2010. – 256 с.
3. Зеленовский, Н. В. Практикум по ветеринарной анатомии: учебное пособие: в 3-х томах / Н. В. Зеленовский, М. В. Щипакин; Зеленовский Н.В., Щипакин М.В. Том 2. – 2-е издание, дополненное и уточненное. – Санкт-Петербург: Информационно-консалтинговый центр Информационно-консалтинговый центр Информационно-консалтинговый центр, 2014. – 317 с.
4. Хватов, В. А. Правая коронарная артерия сердца новорожденного поросенка породы йоркшир / В. А. Хватов, М. В. Щипакин, Д. С. Былинская // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 247-253.
5. Былинская, Д. С. Анатомо-топографические закономерности левой коронарной артерии сердца кошки породы мейн-кун / Д. С. Былинская, Н. В. Зеленовский, Д. В. Васильев // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 3. – С. 170-175.
6. Щипакин, М. В. Коронарные артерии

сердца лошади в период пренатального онтогенеза / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский, Д. С. Былинская // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. – 2022. – № 30(193). – С. 166-175.

7. Васильев, Д. В. Анатомия сердца рыси евразийской / Д. В. Васильев, Н. В. Зеленевский // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 1. – С. 140-143.

8. Тарасевич, В. Н. Особенности артериального кровоснабжения сердца у байкальской нерпы / В. Н. Тарасевич, Н. И. Рядинская // Вестник ИрГСХА. – 2020. – № 97. – С. 145-154.

9. Tarasevich, V. N. Anatomical and histological structure of aortic valve in Baikal seal / V. N. Tarasevich // E3S Web of Conferences, Orel, 24–25 февраля 2021 года. – Orel, 2021. – P. 08009.

10. Глушенок, С. С. Морфология сердца овец породы дорпер на этапах постнатального онтогенеза / С. С. Глушенок // Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК: материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной 90-летию образования казанской зоотехнической школы (факультет ветеринарной медицины), Казань, 26 марта 2020 года / Совет молодых ученых и специалистов ФГБОУ ВО Казанской ГАВМ. Том 1. – Казань: Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2020. – С. 36-38.

11. Глушенок, С. С. Морфологические особенности кровоснабжения сердца овцы породы дорпер / С. С. Глушенок, В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК России: Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, Пенза, 29–30 октября 2020 года. Том 2. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2020. – С. 109-112.

12. Тарасевич, В. Н. Особенности морфологии полулунных клапанов аорты и легочного ствола у сибирской косули / В. Н. Тарасевич, Р. А. Жилин, А. Н. Тарасе-

вич // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2023. – № 1(66). – С. 218-224.

13. Былинская, Д. С. Сравнительная анатомия венечных артерий сердца песца и домашней собаки / Д. С. Былинская, С. С. Глушенок, С. И. Мельников // Животноводство в современных условиях: новые вызовы и пути их решения: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию со дня рождения профессора А.М. Гуськова, Орел, 26 октября 2022 года. – Орел: Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина, 2023. – С. 16-19.

14. Фоменко, Л. В. Методика наливки артерий сердца у крупного рогатого скота / Л. В. Фоменко // Каталог научных и инновационных разработок ФГБОУ ВО Омский ГАУ. Серия "Ветеринария": Сборник материалов по итогам научно-исследовательской деятельности. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2021. – С. 93-94.

15. Лемещенко, В. В. Особенности топографии сердца новорожденных ягнят / В. В. Лемещенко, Р. А. Филонов, И. А. Филонова // Морфология. – 2019. – Т. 155. – № 2. – С. 175.

REFERENCES

1. Zelenevsky, N. V. International veterinary anatomical nomenclature in Latin and Russian. Nomina Anatomica Veterinaria. (fifth edition): Textbooks for universities. Specialized literature / N. V. Zelenevsky; trans. and Russian terminology by N. V. Zelenevsky. - St. Petersburg: Lan Publishing House, 2013. - 400 p. -
2. Khvatov, V. A. Right coronary artery of the heart of a newborn Yorkshire piglet / V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin, D. S. Bylinskaya // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2022. - No. 4. - P. 247-253.
3. Slesarenko, N. A. Animal Morphology: Educational Practice / N. A. Slesarenko, R. F. Kapustin, N. Yu. - Maikop: Belgorod State Agrarian University named after V. Ya. Gorin, 2010. - 256 p.

4. Zelenevsky, N. V. Practical Training in Veterinary Anatomy: A Textbook: in 3 Volumes / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin; Zelenevsky N. V., Shchipakin M. V. Volume 2. - 2nd edition, supplemented and clarified. - St. Petersburg: Information and Consulting Center Information and Consulting Center, 2014. - 317 p.
5. Bylinskaya, D. S. Anatomical and topographic patterns of the left coronary artery of the heart of the Maine Coon cat / D. S. Bylinskaya, N. V. Zelenevsky, D. V. Vasiliev // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2022. - No. 3. - P. 170-175.
6. Bylinskaya, D. S. Comparative anatomy of the coronary arteries of the heart of the arctic fox and domestic dog / D. S. Bylinskaya, S. S. Glushonok, S. I. Melnikov // Animal husbandry in modern conditions: new challenges and ways to solve them: Proceedings of the international scientific and practical conference dedicated to the 70th anniversary of the birth of Professor A. M. Guskov, Orel, October 26, 2022. - Orel: Oryol State Agrarian University named after N.V. Parakhina, 2023. - P. 16-19.
7. Vasiliev, D. V. Anatomy of the Heart of the Eurasian Lynx / D. V. Vasiliev, N. V. Zelenevsky // Issues of Normative-Legal Regulation in Veterinary Medicine. - 2015. - No. 1. - P. 140-143.
8. Tarasevich, V. N. Features of the Arterial Blood Supply to the Heart of the Baikal Seal / V. N. Tarasevich, N. I. Ryadinskaya // Bulletin of the IrSHA. - 2020. - No. 97. - P. 145-154.
9. Tarasevich, V. N. Anatomical and histological structure of aortic valve in Baikal seal / V. N. Tarasevich // E3S Web of Conferences, Orel, February 24-25, 2021. - Orel, 2021. - P. 08009.
10. Glushonok, S. S. Morphology of the heart of Dorper sheep at the stages of postnatal ontogenesis / S. S. Glushonok // Youth developments and innovations in solving priority problems of the agro-industrial complex: materials of the International scientific conference of students, graduate students and school youth dedicated to the 90th anniversary of the foundation of the Kazan zootechnical school (faculty of veterinary medicine), Kazan, March 26, 2020 / Council of young scientists and specialists of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine. Volume 1. - Kazan: Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, 2020. - P. 36-38.
11. Glushonok, S. S. Morphological features of the blood supply to the heart of Dorper sheep / S. S. Glushonok, V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin // The contribution of young scientists to the innovative development of the agro-industrial complex of Russia: Collection of articles of the All-Russian scientific and practical conference of young scientists, Penza, October 29-30, 2020. Volume 2. - Penza: Penza State Agrarian University, 2020. - P. 109-112.
12. Tarasevich, V. N. Features of the morphology of the semilunar valves of the aorta and pulmonary trunk in Siberian roe deer / V. N. Tarasevich, R. A. Zhilin, A. N. Tarasevich // Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University). - 2023. - No. 1 (66). - P. 218-224.
13. Shchipakin, M. V. Coronary arteries of the equine heart during prenatal ontogenesis / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, D. S. Bylinskaya // News of the agricultural science of Tavrida. - 2022. - No. 30 (193). - P. 166-175.
14. Fomenko, L. V. Methodology for filling the arteries of the heart in cattle / L. V. Fomenko // Catalog of scientific and innovative developments of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Omsk State Agricultural University. Series "Veterinary Science": Collection of materials based on the results of research activities. - Omsk: Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, 2021. - P. 93-94.
15. Lemeshchenko, V. V. Features of the topography of the heart of newborn lambs / V. V. Lemeshchenko, R. A. Filonov, I. A. Filonova // Morphology. - 2019. - V. 155. - No. 2. - P. 175.

УДК: 612.017.1:636.5.033-053.2.086.783

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.232

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИСАХАРИДНОЙ ФРАКЦИИ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Карпенко Л.Ю. – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии, (ORCID 0000-0002-2781-5993); **Бахта А.А.** – канд. биол. наук, доц., доц. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0002-5193-2487); **Никонов И. Н.** – канд. биол. наук, ст. преподаватель каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0001-9495-0178).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* ilnikonov@yandex.ru

Ключевые слова: Бурые водоросли, цыплята-бройлеры, фагоцитарная активность, лизоцимная активность, иммунитет.

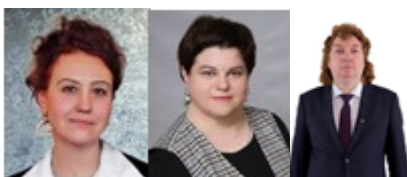
Key words: Brown algae, broiler chickens, phagocytic activity, lysozyme activity, immunity.

Финансирование: исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-16-00181, <https://rscf.ru/project/23-16-00181>.

Поступила: 10.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Птицеводство в России развивается стремительными темпами. Возможность получать высококачественную продукцию за минимальный период откорма сельскохозяйственных птиц, гарантированно обеспечивает продовольственную безопасность страны и ставит данную отрасль в приоритет по сравнению с другими подотраслями животноводства. В настоящее время в кормлении сельскохозяйственных птиц применяются различные кормовые добавки, которые способствуют максимальному повышению продуктивности при сокращении технологического периода выращивания. Целью исследования являлось определение иммунологического статуса цыплят-бройлеров на фоне применения полисахаридной фракции бурых водорослей в комбикормах. Исследование проводили на цыплятах-бройлерах кросса «Смена 9» в условиях СГЦ «Загорское ЭПХ» в соответствии с методикой ВНИТИП. В каждой группе было по 30 голов цыплят, содержащихся без разделения по полу до 35-суточного возраста с соблюдением всех технологических параметров. В крови определяли показатели фагоцитоза, активность лизоцима, бактерицидную активность сыворотки, концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, G по общепринятым методикам. Полисахаридная фракция бурых водорослей содержит в основном фукоидан. Фукоидан – это сульфатированный полисахарид, содержащийся в клеточных стенках бурых водорослей. Фукоидан обладает сильными и важными биологическими свойствами, в том числе противовирусными, противоопухолевыми, антиоксидантными, антикоагулянтными, иммуномодулирующими, антитромботическими, антикомплемментарными и антипролифера-

тивными с потенциальной пользой в качестве иммуностимуляторов и стимуляторов роста у птиц. В ходе проведенного исследования было установлено, что применение полисахаридной фракции в рационах питания цыплят-бройлеров характеризуется стимулирующим действием на факторы врожденного иммунитета, что проявляется в активации процессов фагоцитоза, увеличении бактерицидной и лизоцимной активностей сыворотки крови цыплят-бройлеров. Необходимо отметить, что изменения иммунологического статуса цыплят положительно коррелируют с улучшением зоотехнических показателей.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Птицеводство в России развивается стремительными темпами. Возможность получать высококачественную продукцию за минимальный период откорма сельскохозяйственных птиц, гарантированно обеспечивает продовольственную безопасность страны и ставит данную отрасль в приоритет по сравнению с другими подотраслями животноводства [1]. В настоящее время в кормлении сельскохозяйственных птиц применяются различные кормовые добавки, которые способствуют максимальному повышению продуктивности при сокращении технологического периода выращивания [2].

Многочисленные исследования показывают, что чрезмерное введение антибиотических препаратов в корм повышает потенциальные риски повышения устойчивости патогенов в организме человека. Бактериальная резистентность и остаточное количество антимикробных веществ в качестве стимуляторов роста, в конечном итоге привело к запрету их использования в кормах в большинстве развитых стран, в том числе и в России.

Одним из перспективных направлений подобного поиска являются биологически активные вещества из растений, в т.ч. из морских водорослей [3]. Множество исследований показали, что фитобиотические вещества обладают ростостимулирующим, антимикробной, антиоксидантной и противовоспалительной активностью. Полученные данные определили интерес к изучению механизмов действия фитохимических веществ на организм сельскохозяйственной птицы [4, 5].

Практическая значимость фукусовых определяется их ценным химическим составом. Они содержат уникальный комплекс биологически активных веществ, усиливающих клеточный метаболизм [6].

В них есть полиненасыщенные жирные кислоты (в частности арахидоновая), производные хлорофилла, полисахариды, глюканы, галактаны, пектины, альгиновые кислоты, которые содержатся только в водорослях, альгинаты, полифенолы, лигнины, растительные стерины, фитогормоны, каротиноиды, ферменты и др. [7].

Полисахаридная фракция бурых водорослей содержит в основном фукоидан. Фукоидан — это сульфатированный полисахарид, содержащийся в клеточных стенках бурых водорослей. Цепочка состоит из фукозы в качестве основного моносахарида, а также в различном количестве остатков галактозы, маннозы, ксилозы, рамнозы и глюкуроновой кислоты.

Фукоидан является полимером, состоящим из 1,2-связанных звеньев L-фукозы-4-сульфата и, в редких случаях, 1,3- или 1,4-связанных звеньев фукан-сульфата с боковыми цепями из остатков галактозы, уроновой кислоты и ксилозы. Утверждают, что химическая структура и состав этого сульфатированного полисахарида существенно различаются в зависимости от географического положения, вида, сезона и возраста популяции морских водорослей. Фукоидан обладает сильными и важными биологическими свойствами, в том числе противовирусными, противоопухолевыми, антиоксидантными, антикоагулянтными, иммуномодулирующими, антитромботическими, антикомплементами и антипролиферативными с потенциальной пользой в качестве иммуностимуляторов и стимуляторов роста у птиц [8-13].

Целью исследования являлось определение иммунологического статуса цыплят-бройлеров на фоне применения полисахаридной фракции бурых водорослей в комбикормах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исходя из цели исследований, проведен научно-производственный опыт на цыплятах-бройлерах кросса «Смена 9» в условиях СГЦ «Загорское ЭПХ» в соответствии с методикой ВНИТИП.

Исследования на бройлерах проводили также в виварии СГЦ «Загорское ЭПХ» при клеточном содержании. В каждой группе было по 30 голов цыплят, содержащихся без разделения по полу до 35-суточного возраста с соблюдением всех технологических параметров. Схема опыта представлена в табл. 1.

В крови определяли показатели фагоцитоза, активность лизоцима, бактерицидную активность сыворотки, концентрацию иммуноглобулинов классов А, М,

Г по следующим методикам: показатели фагоцитоза определяли микроскопическим методом с использованием культуры стафилококка штамма 209, инактивированной нагреванием и стандартизированной с использованием оптического стандарта мутности [14]; активность лизоцима определялась фотоэлектроколлометрическим методом по Дорофейчуку А.Г. с изменением температурного режима реакции сыворотки крови кур с культурой *M. liseo-decticus* [14], бактерицидную активность сыворотки крови определялась по методу Мишеля Теффера в модификации О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой [15-16], определение классов иммуноглобулинов методом дискретного осаждения проводилось по Костиной М.А. [16].

Таблица 1 – Схема опыта на цыплятах-бройлерах

№ п/п	Группа	Особенности кормления
1.	Контрольная группа 1	Опытный рацион (ОР) согласно рекомендациям ВНИТИП для кросса «Смена-9»
2.	Опытная группа 2	ОР + полисахаридная фракция (100 г/т корма)
3.	Опытная группа 3	ОР + полисахаридная фракция (200 г/т корма)

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Оценка влияния различных дозировок полисахаридной фракции, выделенной из бурых водорослей, на факторы врожденного иммунитета цыплят-бройлеров представлена в таблице 2.

При анализе таблицы выявлено, что применение различных дозировок фракций, выделенных из бурых водорослей, цыплятам-бройлерам способствует активации такого фактора врожденного иммунитета как фагоцитоз. На это указывают достоверное увеличение показателей, характеризующих процесс фагоцитоза: фагоцитарной активности, фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа: так фагоцитарная активность в 2,1 раза достоверно выше у цыплят-бройлеров 3 группы. При анализе влияния применения различных дозировок фракций, выделенных из бурых водорослей, цыплятам-бройлерам на бактерицидную активность сыворотки крови и активность лизоцима выявлено, у

цыплят-бройлеров второй опытной группы БАСК достоверно выше на 14%, лизоцимная активность достоверно выше на 43%, у цыплят-бройлеров третьей опытной группы БАСК достоверно выше на 19%, лизоцимная активность достоверно выше на 26 %,

Многими авторами отмечается, что слизистая оболочка кишечника является динамическим физическим барьером, который предотвращает колонизацию патогенами. Основными компонентами, которые определяют целостность и проницаемость кишечника, являются: слой слизи, который в основном состоит из гликопротеинов, известных как муцины, и плотные соединения, белковые комплексы, которые герметизируют параклеточный путь между двумя смежными эпителиальными клетками. Таким образом, поддержание барьерной функции и усиление местных иммунных реакций в желудочно-кишечном тракте окажет по-

ложительное влияние на системный иммунный статус животных и общую произ-

водительность, что и наблюдается в данных опытных группах.

Таблица 2 – Действие полисахаридной фракции, выделенной из бурых водорослей на факторы врожденного иммунитета цыплят-бройлеров (M±m)

Группа	Фагоцитарная активность (%)	Фагоцитарный индекс (у.е.)	Фагоцитарное число	БАСК % лизиса E. coli	Лизоцимная активность % лизиса
До начала применения фракций					
1 Контроль	26,82±1,11	11,74±0,56	6,98±0,98	44,45±3,11	8,10±0,56
2 опыт	23,49±1,25	9,76±0,68	4,15±0,88	53,13±2,89	9,12±0,48
3 опыт	21,01±1,39	12,07±0,73	5,74±0,64	49,99±3,12	9,90±0,39
Через 14 дней после начала применения фракций					
1 контроль	16,33±1,46	11,66±0,56	7,14±0,59	50,12±4,12	8,14±0,96
2 опыт	19,40±1,33	11,90±0,86	6,13±0,66	58,46±3,36*	14,40±0,81*
3 опыт	34,85±2,45*	9,05±0,71	2,60±0,54	61,88±4,19*	11,14±0,96*

Примечание: * $p < 0,05$ изменения достоверны при сравнении с показателями контрольной группой.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом установлено, что применение полисахаридной фракции в рационах питания цыплят-бройлеров характеризуется стимулирующим действием на факторы врожденного иммунитета, что проявляется в активации процессов фагоцитоза, увеличении бактерицидной и лизоцимной активностей сыворотки крови цыплят-бройлеров.

IMMUNOLOGICAL STATUS OF BROILER CHICKENS DURING THE APPLICATION OF POLYSACCHARIDE FRACTION OF BROWN ALGAE

Karpenko L.Yu. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Biochemistry and Physiology, ORCID 0000-0002-2781-5993 **Bakhta¹ A.A.** – PhD in Biology, Assoc. Prof., Assoc. Prof. of the Department of Biochemistry and Physiology, ORCID 0000-0002-5193-2487; **Il'nikov¹ I.N.** * – Ph.D. in Biology, Senior Lecturer of the Department of Biochemistry and Physiology, (ORCID 0000-0001-9495-0178).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* ilnikonov@yandex.ru

Financing: the study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-16-00181, <https://rscf.ru/project/23-16-00181>

ABSTRACT

Poultry farming in Russia is developing rapidly. The ability to obtain high-quality products for a minimum period of fattening of farm birds guarantees the country's food security and puts this industry in priority compared to other subsectors of animal husbandry. Currently, various feed additives are used in the feeding of farm birds, which contribute to a maximum increase in productivity while reducing the technological period of cultivation. The aim of the study was to determine the immunological status of broiler chickens against the background of the use of polysaccharide fraction of brown algae in compound feeds. The study was carried out on broiler chickens of the Smena 9 cross in the conditions of the Zagorskoye EPC in accordance with the VNITIP methodology. In each group there were 30 heads of chickens, kept without sex separation up to the

age of 35 days in compliance with all technological parameters. In each group there were 30 heads of chickens, kept without sex separation up to the age of 35 days in compliance with all technological parameters. Phagocytosis parameters, lysozyme activity, serum bactericidal activity, and the concentration of immunoglobulins of classes A, M, and G were determined in the blood according to generally accepted methods. The polysaccharide fraction of brown algae contains mainly fucoidan. Fucoidan is a sulfated polysaccharide found in the cell walls of brown algae. Fucoidan has strong and important biological properties, including antiviral, antitumor, antioxidant, anticoagulant, immunomodulatory, antithrombotic, anti-complementary, and antiproliferative properties with potential benefits as immunostimulants and growth promoters in birds. In the course of the study, it was found that the use of polysaccharide fraction in the diets of broiler chickens is characterized by a stimulating effect on the factors of innate immunity, which is manifested in the activation of phagocytosis processes, an increase in bactericidal and lysozyme activity of the blood serum of broiler chickens. It should be noted that changes in the immunological status of chickens positively correlate with an improvement in zootechnical indicators.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кочиш, И. И. Морские водоросли: потенциал использования в рационах сельскохозяйственных животных (обзор) / И. И. Кочиш, Е. Е. Зимин, И. Н. Никонов // Сельскохозяйственная биология. – 2023. – Т. 58, № 6. – С. 1006-1020. – DOI 10.15389/agrobiology.2023.6.1006rus. – EDN PXHQSO.
2. Капитонова, Е. А. Биохимические показатели крови цыплят-бройлеров при введении фульвокислоты в различных концентрациях / Е. А. Капитонова, П. В. Арефьев, Л. П. Мищенко // Зоотехническая наука Беларуси. – 2021. – Т. 56, № 2. – С. 132-139. – EDN ZABΠO.
3. Карпенко, Л. Ю. Применение фитобиотиков из бурых водорослей в промышленном птицеводстве: современное состояние и перспективы / Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, И. Н. Никонов // Птица и птицепродукты. – 2024. – № 6. – С. 34-37. – DOI 10.30975/2073-4999-2024-26-6-34-37. – EDN UROZUV.
4. Карпенко, Л. Ю. Иммунологический статус кур-несушек на фоне применения в комбикормах полисахаридной и полифенольной фракций бурых водорослей / Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, И. Н. Никонов // Птица и птицепродукты. – 2025. – № 1. – С. 54-56. – DOI 10.30975/2073-4999-2025-27-1-54-56. – EDN MAUAXB.
5. Карпенко, Л. Ю. Перспективы применения бурых водорослей в качестве природного адаптогена / Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, С. Д. Борисова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 263-268. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.263. – EDN RLUMUR.
6. Карпенко Л.Ю. Бурые водоросли Белого моря - перспективный источник биологически активных веществ для сельскохозяйственной птицы / Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, О. О. Бабич [и др.] // Птица и птицепродукты. – 2024. – № 1. – С. 14-16. – DOI 10.30975/2073-4999-2024-26-1-14-16. – EDN QEEUIU.
7. Клиндух, М. П. Сравнительное исследование химического состава бурых водорослей *Fucus vesiculosus* и *Ascophyllum nodosum* / М. П. Клиндух, Е. Д. Облучинская // Вестник МГТУ. Труды Мурманского государственного технического университета. – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 466-471. – EDN RJVINV.
8. Полифенолы бурых водорослей / К. Г. Боголицын, А. С. Дружинина, Д. В. Овчинников [и др.] // Химия растительного сырья. – 2018. – № 3. – С. 5-21. – DOI 10.14258/jcrpm.2018031898. – EDN YABURN.
9. Гепатопротекторные свойства экстракта из бурой водоросли *Saccharina japonica* / В. Г. Спрыгин, Н. Ф. Кушнерова, С. Е. Фоменко [и др.] // Биология моря. – 2013. – Т. 39, № 1. – С. 50-54. – EDN PWUKXJ.
10. Сравнительное исследование химического состава и противоопухолевой активности водно-этанольных экстрактов

бурых водорослей *Laminaria sichorioides*, *Costaria costata* и *Fucus evanescens* / Т. И. Имбс, Н. П. Красовская, С. П. Ермакова [и др.] // Биология моря. – 2009. – Т. 35, № 2. – С. 140-146. – EDN OWKYPT.

11.Спрыгин, В. Г. Полифенольная фракция из морской бурой водоросли *Sargassum pallidum* как фармакологическое средство при гепатозах / В. Г. Спрыгин // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2017. – № 4(71). – С. 115-117. – DOI 10.5281/zenodo.835381. – EDN ZVZZDF.

12.Имбс, Т. И. Флоротаннины - полифенольные метаболиты бурых водорослей / Т. И. Имбс, Т. Н. Звягинцева // Биология моря. – 2018. – Т. 44, № 4. – С. 217-227. – DOI 10.1134/S0134347518040010. – EDN UZCKUY.

13.Дружинина, А. С. Флоротаннины арктических бурых водорослей: специальность 05.21.03 "Технология и оборудование химической переработки биомассы дерева; химия древесины»: диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук / Дружинина Анна Сергеевна, 2019. – 120 с. – EDN UCHIVX.

14.Стандартизация технологий в клинической цитологии: метод. материалы / Ассоц. клин. цитологов России, Науч. о-во специалистов клин. лаб. диагностики; [В. В. Меньшиков, О. Г. Кадашева - сост.]; под ред. В. Н. Богатырева и В. В. Меньшикова. – Москва: Лабора, 2005. – 98 с. – ISBN 5-9900478-1-9. – EDN QLKZLB.

15.Физиологические особенности животных в районах техногенного загрязнения / И. М. Донник, О. Г. Лоретц, М. И. Барашкин [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 1. – С. 21-22. – EDN PVOQNB.

16.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. - СПб: УрГСХА, НПП "АВИВАК", 2009. - 84 с.

REFERENCES

1.Kochish, I. I. Seaweed: the potential of use in the diets of farm animals (review) / I. I. Kochish, E. E. Zimin, I. N. Nikonov // Agri-

cultural Biology. – 2023. – Vol. 58, No. 6. – pp. 1006-1020. – DOI 10.15389/agrobiology.2023.6.1006rus. – EDN PXHQSO.

2.Kapitonova E. A., Arefyev P. V., Mishchenko L. P. Biochemical parameters of blood of broiler chickens with the introduction of fulvic acid in various concentrations / E. A. Kapitonova, Mishchenko L. P. Mishchenko // Zootechnical science of Belarus. – 2021. – Vol. 56, No. 2. – pp. 132-139. – EDN ZABIIO.

3.Karpenko, L. Y. The use of phytobiotics from brown algae in industrial poultry farming: current state and prospects / L. Y. Karpenko, A. A. Bakhta, I. N. Nikonov // Poultry and poultry products. – 2024. – No. 6. – pp. 34-37. – DOI 10.30975/2073-4999-2024-26-6-34-37. – EDN UROZUV.

4.Karpenko, L. Y. The immunological status of laying hens against the background of the use of polysaccharide and polyphenolic fractions of brown algae in compound feeds / L. Y. Karpenko, A. A. Bakhta, I. N. Nikonov // Poultry and poultry products. – 2025. – No. 1. – pp. 54-56. – DOI 10.30975/2073-4999-2025-27-1-54-56. – EDN MAUAXB.

5. Karpenko, L. Y. Prospects of using brown algae as a natural adaptogen / L. Y. Karpenko, A. A. Bakhta, S. D. Borisova [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2023. – No. 4. – pp. 263-268. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.263. – EDN RLUMUR.

6.Karpenko L.Y. Brown algae of the White Sea - a promising source of biologically active substances for poultry / L. Y. Karpenko, A. A. Bakhta, O. O. Babich [et al.] // Poultry and poultry products. – 2024. – No. 1. – pp. 14-16. – DOI 10.30975/2073-4999-2024-26-1-14-16. – EDN QEEUIU.

7.Klindukh, M. P. Comparative study of the chemical composition of brown algae *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum* / M. P. Klindukh, E. D. Obluchinskaya // Bulletin of the Moscow State Technical University. Proceedings of the Murmansk State Technical University. – 2013. – Vol. 16, No. 3. – pp. 466-471. – EDN RJVINV.

8.Polyphenols of brown algae / K. G. Bogolitsyn, A. S. Druzhinina, D. V. Ovchinnikov

- [et al.] // Chemistry of plant raw materials. – 2018. – No. 3. – pp. 5-21. – DOI 10.14258/jcprm.2018031898. – EDN YABURN.
9. Hepatoprotective properties of extract from brown algae *Saccharina japonica* / V. G. Sprygin, N. F. Kushnerova, S. E. Fomenko [et al.] // Marine Biology. – 2013. – Vol. 39, No. 1. – pp. 50-54. – EDN PWUKXJ.
10. Comparative study of the chemical composition and antitumor activity of water-ethanol extracts of brown algae *Laminaria cichorioides*, *Costaria costata* and *Fucus evanescens* / T. I. Imbs, N. P. Krasovskaya, S. P. Ermakova [et al.] // Marine Biology. – 2009. – Vol. 35, No. 2. – pp. 140-146. – EDN OWKYPT.
11. Sprygin, V. G. Polyphenolic fraction from the marine brown alga *Sargassum pallidum* as a pharmacological agent for hepatitis / V. G. Sprygin // Health. Medical ecology. Science. – 2017. – № 4(71). – Pp. 115-117. – DOI 10.5281/zenodo.835381. – EDN ZVZZDF.
12. Imbs, T. I. Phlorotannins - polyphenolic metabolites of brown algae / T. I. Imbs, T. N. Zvyagintseva // Marine Biology. – 2018. – Vol. 44, No. 4. – PP. 217-227. – DOI 10.1134/S0134347518040010. – EDN UZ-CKUY.
13. Druzhinina, A. S. Phlorotannins of Arctic brown algae: specialty 05.21.03 "Technology and equipment for chemical processing of wood biomass; wood chemistry" : dissertation for the degree of Candidate of Chemical Sciences / Druzhinina Anna Sergeevna, 2019. – 120 p. – EDN UCHIVX.
14. Standardization of technologies in clinical cytology: a method. materials / Assoc. the wedge. Cytologists of Russia, Sci. about the specialists of clinical laboratory diagnostics; [V. V. Menshikov, O. G. Kadasheva - comp.] ; edited by V. N. Bogatyrev and V. V. Menshikov. Moscow: Labora, 2005. 98 p. ISBN 5-9900478-1-9. EDN QLKZLB.
15. Physiological features of animals in areas of anthropogenic pollution / I. M. Donnik, O. G. Loretz, M. I. Barashkin [et al.] // Veterinary Medicine of Kuban. – 2013. – No. 1. – pp. 21-22. – EDN PVOQHB.
16. Sadovnikov, N.V. General and special methods of blood testing of birds of industrial crosses / N.V. Sadovnikov, N.D. Pridybailo, N.A. Vereshchak, A.S. Zaslونov // Yekaterinburg. - SPb: UrGSHA, NPP "AVIVAK", 2009. - 84 p.

УДК: 611.134.3:599.742.41

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.239

ВОЗРАСТНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ АРТЕРИАЛЬНОГО РУСЛА ОБЛАСТИ ПРЕДПЛЕЧЬЯ У СОБОЛЕЙ ЧЕРНОЙ ПУШКИНСКОЙ ПОРОДЫ

Чумаченко Б.В. – асп. каф. анатомии животных (ORCID 0009-0007-6225-7775); Щипакин М.В. – д-р ветеринар. наук, проф., зав. кафедрой анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

* bogdan.vetvrach@mail.ru

Ключевые слова: артериальное русло, вазорентгенография, соболеводство, артерии предплечья, кровоснабжение, грудная конечность.

Key words: arterial bed, vasorentgenography, sable breeding, forearm arteries, blood supply, thoracic limb.

Поступила: 28.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Пушное звероводство – это уникальная, молодая и развивающаяся отрасль животноводства в Российской Федерации, которая обеспечивает меховой продукцией не только рынок страны, но и экспортирует 5-10% в страны дальнего зарубежья. Среди пушного звероводства наиболее актуальным является разведение соболей, так как совокупность их биологических особенностей развития обеспечивает высокую продуктивность пушного сырья. Патологии, обнаруженные в строении конечностей (деформации суставов, слабость мышц, неправильная постановка пальцев) приводят к снижению активности, стрессу, травмам и даже гибели щенков в первые недели жизни. Поэтому в современных хозяйствах строго контролируют анатомические особенности животных на этапе селекции: особей с дефектами исключают из разведения, отдавая предпочтение тем, чьи морфологические признаки соответствуют стандартам здоровья. Цель исследования – установить и изучить ход и ветвление артериального русла области предплечья у соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте и определить морфометрические параметры магистральных сосудов. Объектом для исследования послужили самцы соболей в возрасте 15-20 и 36-40 месяцев от рождения. Количество исследуемых животных составило по пять голов в каждой группе. Исследование проводили с применением таких методов как: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование, вазорентгенография, компьютерная томография. При исследовании были установлены основные магистрали артериального русла, а также их ход и ветвление на грудной конечности в области предплечья у соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте. Наблюдается основная динамика увеличения диаметра сосудов в среднем в 1,52 раза у особей в 36-40 месяцев жизни, по сравнению с соболями 15-20 месяцев от рождения. Данный факт обусловлен, несмотря на клеточное содержание животных, соболей являются активными животными, а грудные конечности выполняют ряд жизненно необходимых функций, в которых с возрастом возрастает их потребность.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Пушное звероводство – это уникальная, молодая и развивающаяся отрасль животноводства в Российской Федерации, которая обеспечивает меховой продукцией не только рынок страны, но и экспортирует 5-10% в страны дальнего зарубежья. Среди пушного звероводства наиболее актуальным является разведение соболей, так как совокупность их биологических особенностей развития обеспечивает высокую продуктивность пушного сырья. Мех соболей обладает уникальными свойствами: высокой плотностью, шелковистостью и устойчивостью к внешним воздействиям, что делает его эталоном качества. Соболи демонстрируют высокую чувствительность к стрессовым факторам, включая ограничение в пространстве, что требует особых подходов к их содержанию для минимизации негативного влияния на физиологию, включая аппарат движения и сосудистую систему. Современные российские фермы используют усовершенствованные передовые технологии содержания, кормления и селекции, данный факт позволяет получать соболей с густым, блестящим мехом различных оттенков, который варьирует от классического тёмно-коричневого до редких серебристых и золотистых. Государственная поддержка, включая гранты на модернизацию хозяйств и научные исследования, а также растущий спрос на экологически устойчивый мех, способствуют укреплению позиций России в этом сегменте животноводства. Качество потомства соболей напрямую зависит от анатомического здоровья производителей, включая отсутствие патологий грудных конечностей. Эти конечности играют определяющую роль в жизнедеятельности животных: они обеспечивают подвижность, возможность рыть норы, лазать по деревьям и ухаживать за потомством [1-5]. Патологии, обнаруженные в строении конечностей (деформации суставов, слабость мышц, неправильная постановка пальцев) приводят к снижению активности, стрессу, травмам и даже гибели щенков в

первые недели жизни. Кроме того, особи с патологиями чаще страдают от вторичных заболеваний, таких как артриты или нарушения кровообращения, что негативно сказывается на их репродуктивной функции. Поэтому в современных хозяйствах строго контролируют анатомические особенности животных на этапе селекции: особей с дефектами исключают из разведения, отдавая предпочтение тем, чьи морфологические признаки соответствуют стандартам здоровья [6-8].

Цель исследования – установить и изучить ход и ветвление артериального русла области предплечья у соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте и определить морфометрические параметры магистральных сосудов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Материалом для нашего исследования послужили трупы соболей черной пушкинской породы, полученных со зверохозяйства Ленинградской области. Объектом для исследования послужили самцы соболей в возрасте 15-20 и 36-40 месяцев от рождения. Количество исследуемых животных составило по пять голов в каждой группе. Исследования проводились на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Исследование проводили с применением таких методов как: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование, вазорентгенография, компьютерная томография [9-13].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате проведенных исследований было установлено, что коллатеральная локтевая артерия (a. collateralis ulnaris) у соболя черной пушкинской породы берет начало от каудальной поверхности плечевой кости в дистальной трети. Состоит из двух ветвей: первая – проходит каудально и достигает медиальной поверхности трехглавой мышцы плеча; вторая – отходит непосредственно от плечевой кости и проходит дистально по направлению к пальмарной поверхности предплечья. От данного сосуда прокси-

мально к локтевому суставу ответвляется коллатераль, которая проходит под медиальной головкой трехглавой мышцы плеча. Она снабжает кровью локтевую мышцу, жировую клетчатку и капсулу локтевого сустава. Ветвь, которая продолжается дистально, разветвляется в проксимальных частях мышц-сгибателей предплечья. По ходу своего пути коллатеральная локтевая артерия анастомозирует с проксимально отходящей ветвью межкостной артерии между локтевой и плечевой головками глубокого сгибателя пальца. Также данный сосуд проходит рядом с локтевым нервом. Диаметр коллатеральной локтевой артерии у соболей в первой возрастной группе в среднем составляет $0,41 \pm 0,04$ мм, к возрасту второй возрастной группы этот показатель увеличивается в 1,51 раза и равен $0,62 \pm 0,06$ мм по отношению к соболям 15-20 месяцев от рождения.

Коллатеральная лучевая артерия (*a. collateralis radialis*) у соболя черной пушкинской породы берет начало в области дистального конца плечевой кости. Располагается между двуглавой мышцей плеча и плечевой мышцей. Далее коллатеральная лучевая артерия спускается на дорсальную поверхность предплечья и проходит рядом с ветвями глубокого плечевого нерва. Коллатеральная лучевая артерия соединяется с общей межкостной артерией в области латеральной поверхности предплечья. Диаметр коллатеральной лучевой артерии у соболей в первой возрастной группе в среднем составляет $0,42 \pm 0,04$ мм, к возрасту второй возрастной группы этот показатель увеличивается в 1,52 раза и равен $0,64 \pm 0,06$ мм по отношению к соболям 15-20 месяцев от рождения.

Глубокая плечевая артерия (*a. profunda brachii*) у соболя черной пушкинской породы выходит с каудальной стороны плечевой кости в проксимальной трети. Данная артерия имеет одну или две ветви. Более крупная ветвь входит в медиальную и длинную головки трехглавой мышцы плеча; меньшая ветвь входит в медиальную головку трехглавой мышцы пле-

ча. Диаметр глубокой плечевой артерии у соболей в первой возрастной группе в среднем составляет $0,44 \pm 0,04$ мм, к возрасту второй возрастной группы этот показатель увеличивается в 1,55 раза и равен $0,68 \pm 0,06$ мм по отношению к соболям 15-20 месяцев от рождения.

Возвратная локтевая артерия (*a. recurrens ulnaris*) у соболя черной пушкинской породы это небольшой сосуд, который ответвляется от плечевой артерии с каудальной поверхности проксимального конца лучевой кости. Возвратная локтевая артерия проходит под лучевым сгибателем запястья и обеспечивает его кровоснабжение. Она продолжается каудально через головку глубокого сгибателя пальцев, и заканчивается в поверхностном сгибателе пальцев. Возвратная локтевая артерия анастомозирует с коллатеральной лучевой артерией. Диаметр возвратной локтевой артерии у соболей в первой возрастной группе в среднем составляет $0,35 \pm 0,03$ мм, к возрасту второй возрастной группы этот показатель увеличивается в 1,54 раза и равен $0,54 \pm 0,05$ мм по отношению к соболям 15-20 месяцев от рождения.

Поперечная локтевая артерия (*a. transversa cubiti*) у соболя черной пушкинской породы берет начало на латеральной поверхности плечевой кости, проходит под дистальным концом двуглавой мышцы плеча и достигает лучевого разгибателя запястья, она распадается на множество разветвлений, большинство из которых питают локтевую мышцу. Также этой артерии присуще ответвление, которое проходит проксимально и вместе с лучевой артерией анастомозирует с ветвью питательной артерии плечевой кости, которая выходит от одноименного отверстия. Помимо ветвей, которые идут к разгибателю лучевой кости запястья, есть ответвления, которые идут к супинатору, общему разгибателю пальцев и плечевой мышце. Также могут возникать анастомозы с межкостной краниальной и поверхностной плечевой артериями. Диаметр поперечной локтевой артерии у соболей в возрасте 15-20 месяцев от рождения в среднем составляет $0,34 \pm 0,03$ мм, к воз-

расту 36-40 месяцев этот показатель увеличивается в 1,51 раза и равен $0,51 \pm 0,05$ мм по отношению к соболям 15-20 месяцев от рождения.

Общая межкостная артерия (a. interossea communis) у соболя черной пушкинской породы является одной из крупной ветви плечевой артерии. Она проходит от латеральной поверхности плеча до межкостного пространства на проксимальном эпифизе квадратного пронатора. Таким образом, артерия проходит вокруг локтевого сустава, прежде чем войти в межкостное пространство, она направляет

одну или несколько ветвей краниально в пронаторные мышцы и дает начало крупной каудально проходящей дополнительной межкостной артерии, в пределах межкостного пространства она заканчивается разделением на каудальную межкостную и краниальную межкостную артерии. Диаметр общей межкостной артерии у соболей в возрасте 15-20 месяцев от рождения в среднем составляет $0,44 \pm 0,04$ мм, к возрасту 36-40 месяцев этот показатель увеличивается в 1,49 раза и равен $0,66 \pm 0,07$ мм по отношению к соболям 15-20 месяцам от рождения.

Таблица 1 – Морфометрические показатели диаметра артерий в области предплечья соболя черной пушкинской породы в возрастном аспекте

Наименование артерии	Единицы измерения	Соболь 15-20 месяцев от рождения	Соболь 36-40 месяцев от рождения
Коллатеральная локтевая артерия	мм	$0,41 \pm 0,04$	$0,62 \pm 0,06^*$
Коллатеральная лучевая артерия	мм	$0,42 \pm 0,04$	$0,64 \pm 0,06^*$
Глубокая плечевая артерия	мм	$0,44 \pm 0,04$	$0,68 \pm 0,06^*$
Возвратная локтевая артерия	мм	$0,35 \pm 0,03$	$0,54 \pm 0,05^*$
Поперечная локтевая артерия	мм	$0,34 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,05^*$
Общая межкостная артерия	мм	$0,44 \pm 0,04$	$0,66 \pm 0,07^*$

* $P < 0,05$ уровень достоверности при сравнении с соболями 15-20 месяцев от рождения.

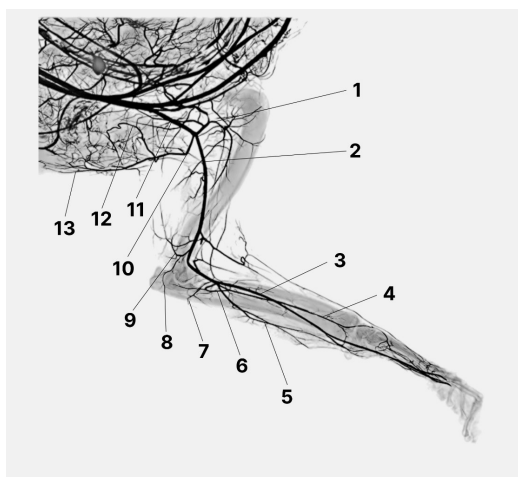


Рисунок 1 – Артерии грудной конечности соболя черной пушкинской породы. Возраст 36-40 месяцев. Инъекция сосудов свинцовым суриком на живичном скипидаре.

1 – акромиальная артерия; 2 – плечевая артерия; 3 – срединная артерия; 4 – срединнолучевая артерия; 5 – локтевая артерия; 6 – общая межкостная артерия; 7 – поперечная артерия локтя; 8 – коллатеральная локтевая артерия; 9 – коллатеральная лучевая артерия; 10 – подлопаточная артерия; 11 – подмышечная артерия; 12 – окружная лопаточная артерия; 13 – грудоспинная артерия.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, при исследовании были установлены основные магистрали артериального русла, а также их ход и ветвление на грудной конечности в области предплечья у соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте. Наблюдается основная динамика увеличения диаметра сосудов в среднем в 1,52 раза у особей в 36-40 месяцев жизни, по сравнению с соболями 15-20 месяцев от рождения. Данный факт обусловлен, несмотря на клеточное содержание животных, собои являются активными животными, а грудные конечности выполняют ряд жизненно необходимых функций, в которых с возрастом возрастает их потребность. Здоровые грудные конечности соболя становятся не только залогом благополучия отдельных особей, но и основой для устойчивого развития всей отрасли, обеспечивая высокое качество меха и конкурентоспособность российского соболеводства на международной арене.

AGE-RELATED PATTERNS OF THE ARTERIAL BED OF THE FOREARM AREA IN BLACK PUSHKIN SABLES

Chumachenko B.V. – Postgraduate student of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0009-0007-6225-7775);
Shchipakin M.V. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-2960-3222)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* bogdan.vetvrach@mail.ru

ABSTRACT

Fur farming is a unique, young and developing branch of animal husbandry in the Russian Federation, which provides fur products not only to the country's market, but also exports 5-10% to non-CIS countries. Among fur farming, the most relevant is the breeding of sables, since the combination of their biological development features ensures high productivity of fur raw materials. Pathologies found in the structure of the

limbs (joint deformities, muscle weakness, incorrect finger placement) lead to decreased activity, stress, injury, and even death of puppies in the first weeks of life. Therefore, modern farms strictly control the anatomical features of animals at the breeding stage: individuals with defects are excluded from breeding, giving preference to those whose morphological characteristics meet health standards. The aim of the study was to establish and study the course and branching of the arterial bed of the forearm area in Black Pushkin sables in the age aspect and to determine the morphometric parameters of the main vessels. The object of the study was male sables aged 15-20 and 36-40 months from birth. The number of animals studied was five in each group. The study was carried out using such methods as fine anatomical dissection, morphometry, photographing, vasorentgenography, computed tomography. During the study, the main arterial highways were identified, as well as their course and branching on the thoracic limb in the forearm area in black Pushkin sables in the age aspect. The main dynamics of vascular diameter increase is observed by an average of 1.52 times in individuals at 36-40 months of life, compared with sables 15-20 months from birth. This fact is due to the fact that, despite the cellular content of animals, sables are active animals, and the pectoral limbs perform a number of vital functions, in which their need increases with age.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Соболеводство России: история, состояние и перспективы его развития / Н. А. Балакирев, Н. Н. Шумилина, О. И. Федорова [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2022. – Т. 251, № 3. – С. 20-27. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_3_251_20.
2. Бакеев, Н. Н. Соболи / Н. Н. Бакеев, Г. И. Монахов, А. А. Сеницын. – Вятка: ГНУ ВНИИОЗ, 2003. – 336 с.
3. Балакирев, Н. А. Современное состояние клеточного пушного звероводства в мире / Н. А. Балакирев // Кролиководство и звероводство. – 2021. – № 3. – С. 12.

4. Чумаченко, Б. В. Морфофункциональные особенности мышц плечевого сустава соболя черной пушкинской породы / Б. В. Чумаченко, М. В. Щипакин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2025. – № 1. – С. 154-158.
5. Мышцы плечевого пояса лисицы породы Бастард / Д. В. Васильев, В. А. Хватов, Ю. Ю. Бартенева, А. С. Стратонов // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 121-124. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.121.
6. Рыбалкин, С. М. Клиническая анатомия локтевого сустава собаки в норме и патологии / С. М. Рыбалкин, М. В. Щипакин, С. И. Мельников // Устойчивое развитие агропромышленного комплекса как основа продовольственной безопасности: сборник материалов международной научной конференции, Смоленск, 07 декабря 2023 года. – Смоленск, 2023. – С. 333-338.
7. Кухарева, Т. П. Особенности морфологии мышц краниолатеральной поверхности предплечья у енота-полоскуна (*Procyon lotor*) / Т. П. Кухарева, Д. С. Былинская // Актуальные вопросы развития науки и технологий: Сборник статей молодых учёных, Караваево, 04 апреля 2024 года. – Караваево: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Костромская государственная сельскохозяйственная академия", 2024. – С. 227-232.
8. Кухарева, Т. П. Флексоры локтевого сустава енота-полоскуна (*Procyon lotor*) / Т. П. Кухарева, Д. С. Былинская // Морфология в XXI веке: теория, методология, практика: Сборник трудов Международной научно-практической конференции, Москва, 24–26 апреля 2024 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К. И. Скрябина», 2024. – С. 165-168.
9. Анатомия скелета плеча и предплечья у собак породы бассет хаунд / М. В. Щипакин, С. В. Вирунен, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2016. – № 3(50). – С. 114-119. – DOI 10.17238/issn2071-2243.2016.3.114.
10. Васильев, Д. В. Мышцы локтевого сустава лисицы породы Бастард / Д. В. Васильев, В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 116-119. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.1.116.
11. Анатомо-топографические особенности строения локтевого нерва белой швейцарской овчарки / В. А. Хватов, М. В. Щипакин, Д. С. Былинская, А. С. Стратонов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 161-164. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.161.
12. Артериальное кровоснабжение области предплечья и кисти немецкой овчарки / А. В. Прусаков, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленецкий [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 128-130.
13. Fabre A., Cornette R. Do constraints associated with the locomotor habitat drive the evolution of forelimb shape? A case study in musteloid carnivorans [Text: direct] // Journal of Anatomy. - 2015. - №226. - P. 596-610.

REFERENCES

1. Russian sable breeding: history, state and prospects of its development / N. A. Balakirev, N. N. Shumilina, O. I. Fedorova [et al.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2022. – Vol. 251, No. 3. – pp. 20-27. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_3_251_20.
2. Bakeev, N. N. Sobol / N. N. Bakeev, G. I. Monakhov, A. A. Sinitsyn. – Vyatka: GNU VNIIOZ, 2003. – 336 p.
3. Balakirev, N. A. The current state of cage fur farming in the world / N. A. Balakirev // Rabbit breeding and animal husbandry. – 2021. – № 3. – P. 12.
4. Chumachenko, B. V. Morphofunctional features of the shoulder joint muscles of the black Pushkin sable / B. V. Chumachenko, M. V. Shchipakin // Regulatory and legal

- regulation in veterinary medicine. – 2025. – No. 1. – pp. 154-158.
5. Muscles of the shoulder girdle of the Bastard fox / D. V. Vasiliev, V. A. Khvatov, Yu. Yu. Barteneva, A. S. Stratonov // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2021. – No. 4. – pp. 121-124. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.121.
6. Rybalkin, S. M. Clinical anatomy of the elbow joint of a dog in norm and pathology / S. M. Rybalkin, M. V. Shchipakin, S. I. Melnikov // Sustainable development of the agro-industrial complex as the basis of food security: proceedings of the international scientific conference, Smolensk, December 07, 2023. – Smolensk, 2023. – pp. 333-338.
7. Kukhareva, T. P. Features of the morphology of the muscles of the craniolateral surface of the forearm in a striped raccoon (*Procyon lotor*) / T. P. Kukhareva, D. S. Bylinskaya // Actual issues of the development of science and technology: A collection of articles by young scientists, Karavaevo, April 04, 2024. Karavaevo: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Kostroma State Agricultural Academy, 2024, pp. 227-232.
8. Kukhareva, T. P. Flexors of the elbow joint of the striped raccoon (*Procyon lotor*) / T. P. Kukhareva, D. S. Bylinskaya // Morphology in the 21st century: theory, methodology, practice: Proceedings of the Scientific and Practical International Conference, Moscow, April 24-26, 2024. Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K. I. Scriabin", 2024, pp. 165-168.
9. Anatomy of the skeleton of the shoulder and forearm in Basset Hound dogs / M. V. Shchipakin, S. V. Virunen, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya // Bulletin of the Voronezh State Agrarian University. – 2016. – № 3 (50). – Pp. 114-119. – DOI 10.17238/issn2071-2243.2016.3.114.
10. Vasiliev, D. V. Muscles of the elbow joint of the Bastard fox / D. V. Vasiliev, V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2022. – No. 1. – pp. 116-119. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.1.116.
11. Anatomical and topographic features of the ulnar nerve structure of the white Swiss Shepherd / V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin, D. S. Bylinskaya, A. S. Stratonov // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2021. – No. 4. – pp. 161-164. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.161.
12. Arterial blood supply to the forearm and hand area of the German Shepherd / A.V. Prusakov, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky [et al.] // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2019. – No. 2. – pp. 128-130.
13. Fabre A., Cornett R. Do the constraints associated with the locomotor environment affect the evolution of the shape of the forelimbs? Research on the example of marten predators [Text] // Journal of Anatomy. - 2015. - No. 226. - P. 596-610.

УДК: 591.473.31:599.325.1

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.246

РЕНТГЕНОАНОТОМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОСТНОГО ОСТОВА ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА В ОЦЕНКЕ ВИДОВОЙ И ВНУТРИВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЖИВОТНЫХ

Слесаренко Н.А. * – д-р биол. наук, проф. каф. анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова (ORCID 0000-0002-8350-5965); **Щетинина Е.А.** – студ. 4 курса ФВМ; **Плешаков Ф.Д.** – асс. каф. общей патологии (ORCID 0000-0002-4097-2125); **Широкова Е.О.** – канд. биол. наук, доц. каф. анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова (ORCID 0000-0003-4891-5405);

ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА им. К.И. Скрябина

* slesarenko2009@yandex.ru

Ключевые слова: кролик, кошка, собака, свинья, овца, коза, лопатка, плечевая кость, бедренная кость.

Keywords: rabbit, cat, dog, pig, sheep, goat, shoulder blade, humerus, femur.

Поступила: 09.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Совершенствование классических и разработка новых методов диагностики состояния костного остова опорно-двигательного аппарата остается одной из актуальных проблем в области клинической анатомии, имеющей прикладное значение для ветеринарной медицины и ветеринарно-санитарной экспертизы. Вместе с тем, при оценке состояния костно-связочной системы не всегда учитывают параметры анатомической нормы и её варианты, что симулирует многочисленные диагностические ошибки. Одним из объективных и доступных методов лучевой диагностики состояния костно-суставной системы является обзорная рентгенография, которая дает объективные сведения о морфологических особенностях минеральной фазы костного вещества. В статье представлены рентгеноанатомические показатели костного остова грудной и тазовой конечностей животных различных таксономических групп. Исследования выполнены на кафедре анатомии и гистологии животных им. А. Ф. Климова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К. И. Скрябина». Использованный методический подход включал обычное и тонкое анатомическое препарирование, обзорную рентгенографию, рентгенометрию с последующим определением индексов развития костного остова, сравнительного рентгеноанатомического анализа и статистическую обработку полученных цифровых данных. Цель исследования – разработать алгоритм рентгеноанатомической оценки состояния костно-суставной системы у животных различных таксономических групп. Установлены рентгеноанатомические параметры состояния костного остова конечностей. Наряду с общими закономерностями анатомического устройства выявлены видоспецифические особенности, которые являются не только показателем нормы строения,

но и её вариантом, что чрезвычайно важно учитывать при дешифровке рентгенографической информации. Полученные данные могут явиться базовыми в сравнительной и клинической анатомии животных, при выявлении патологий их опорно-двигательного аппарата, а также в вопросах судебной ветеринарной экспертизы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Совершенствование классических и разработка новых методов диагностики состояния костного остова опорно-двигательного аппарата остается одной из актуальных проблем в области клинической анатомии, имеющей прикладное значение для ветеринарной медицины и ветеринарно-санитарной экспертизы.

Вместе с тем, при оценке состояния костно-связочной системы не всегда учитывают параметры анатомической нормы и её варианты, что симулирует многочисленные диагностические ошибки. Одним из объективных и доступных методов лучевой диагностики состояния костно-суставной системы является обзорная рентгенография, которая дает объективные сведения о морфологических особенностях минеральной фазы костного вещества [7,9-11]. Известно, что она является лабильной и подвергается структурным перестройкам под влиянием изменяющейся биомеханической нагрузки, которые четко отображаются рентгенографически.

Вместе с тем, информация по данному вопросу, изложенная в источниках доступной литературы, не систематизиро-

вана и противоречива. Более того, не установлены визуальные признаки и индексные показатели развития костной системы у животных с учетом их видовой, внутривидовой, возрастной и породной принадлежности, условий содержания.

Исходя из этого, цель настоящего исследования – разработать алгоритм рентгеноанатомической оценки состояния костно-суставной системы у животных различных таксономических групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполнены на кафедре анатомии и гистологии животных имени А. Ф. Климова. Материалом для исследования (табл. 1) явился секционный материал (грудные и тазовые конечности животных).

Использованный методический подход включал обычное и тонкое анатомическое препарирование, обзорную рентгенографию, рентгенометрию с последующим определением индексов развития костного остова, сравнительного рентгеноанатомического анализа и статистическую обработку полученных цифровых данных.

Таблица 1 – Секционный материал (грудные и тазовые конечности животных)

Вид животного	Количество костей (n)
Кролик	62
Заяц	30
Кошка	16
Собака	14
Шалайка	12
Овца	10
Коза	10
Свинья	8
Лошадь	6
Кабан	4

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На грудной конечности у изучаемых представителей значимые отличительные особенности были выявлены в строении лопатки, плечевой кости и костей предплечья.

Известно, что у большинства животных ость лопатки прямая. Вместе с тем, у представителя козых – козы домашней, она наклонена в сторону предостной ямки и её перекрывает (рис. 1 (А)).

Степень выраженности бугра лопатки (рис. 1) также является одним из важных видоспецифических признаков строения.

Его мощное развитие у представителей свинных (свинья и кабан) и ориентация в сторону заостной ямки – видоспецифический признак для данных представителей (рис. 1 (Г)). Обращает на себя внимание наличие на ости лопатки дополнительного анатомического образования – акромиона (рис. 1), который отсутствует у лошадиных и свинных, у крупного и мелкого рогатого скота он заострен, у псовых – закруглен, а у кошачьих и зайцевых снабжен дополнительным отростком – метакромионом (рис. 1 (Б; В)).

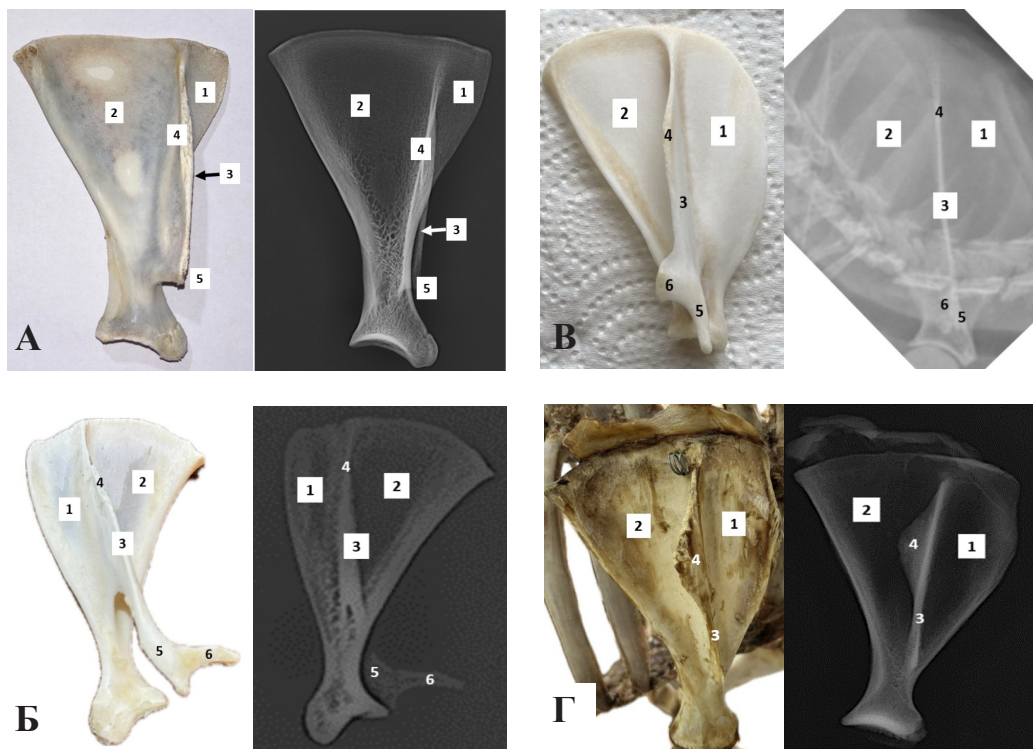


Рисунок 1 – Макроморфологическая и рентгенографическая картины лопатки козы домашней (А), кролика (Б), кошки домашней (В) и кабана (Г). Оригинальный макропрепараты. 1 – предостная ямка; 2 – заостная ямка; 3 – ость лопатки; 4 – бугор ости лопатки; 5 – акромион; 6 – метакромион.

При изучении рентгеноанатомических особенностей проксимального эпифиза плечевой кости обращает на себя внимание отличия в степени выраженности и количеству её бугров – у лошади-

ных их три, тогда как у остальных изучаемых животных присутствуют - два. Наиболее развиты бугры плечевой кости у лошадиных, свинных, крупного и мелкого рогатого скота. Важно отметить анато-

мическое оформление дистального эпифиза, которое имеют отличительные признаки даже у близкородственных видов животных. Так, у овцы локтевая ямка в области дистального эпифиза конусовидная, в то время как у козы приближается к овалу (рис. 2). Форма локтевой ямки варьирует в зависимости от вида животного и не является деструктивным показателем.

Расположенные над суставным блоком лучевая и локтевая ямки отличаются повышенной рентгеновской плотностью (рис. 2), что симулирует присутствие в

данной области надблокового отверстия, которое не обнаружено на скелетированных анатомических препаратах.

Надблоковое отверстие – видоспецифический анатомический признак пальцеходящих животных – кошачьих, псовых, зайцевых и представителя свинных – кабана (рис. 3). У жвачных, лошадиных и кошачьих оно отсутствует. Вместе с тем, у кошачьих с медиальной поверхности дистального эпифиза необходимо учитывать наличие овального надмыщелкового отверстия (рис. 3 (Г)), через которое проходит срединный нерв и плечевая артерия.

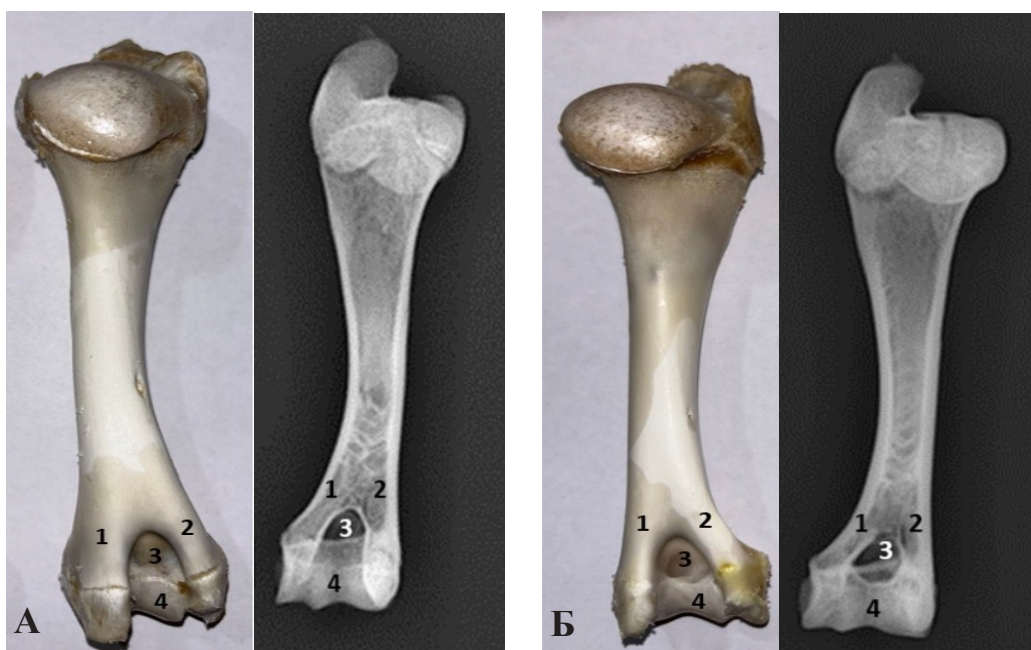


Рисунок 2 – Макроморфологическая и рентгенографическая картина плечевой кости у козы (А) и овцы (Б). Оригинальные макропрепараты. 1 – медиальный надмыщелок; 2 – латеральный надмыщелок; 3 – локтевая ямка; 4 – блок плечевой кости.

Кости предплечья у изучаемых нами животных ориентированы преимущественно прямолинейно и имеют в рентгеновском отражении ровные и четкие наружные и внутренние контуры (рис. 4). Обнаруженная нами ярко выраженная по данным рентгенографии их изогнутость у зайцевых (рис. 4 (А)) – норма строения, а не результат деформационных патологических изменений контуров кости.

Степень сращения костей предплечья – важный диагностический признак в оценке видовой принадлежности животных. Известно, что у лошади редуцированная локтевая кость, срастаясь с лучевой, оставляет одно межкостное проксимальное пространство (рис. 4 (В)), у жвачных – два (проксимальное и дистальное), у представителей свинных кости не прочно срастаются, у грызунов, зайцевых

и плотоядных они соединены между собой подвижно (рис.4 (А; Б; Г; Д)). Вместе с тем, при дешифровке рентгенографической информации следует учитывать, что анатомическое оформление костного остова предплечья имеет внутривидовые

отличительные признаки. Так, у шалайки – полудикого гибрида псовых, в отличие от собаки домашней, проксимальное межкостное пространство предплечья отсутствует [5], а дистальное начинается на его середине (рис. 4 (Д)).

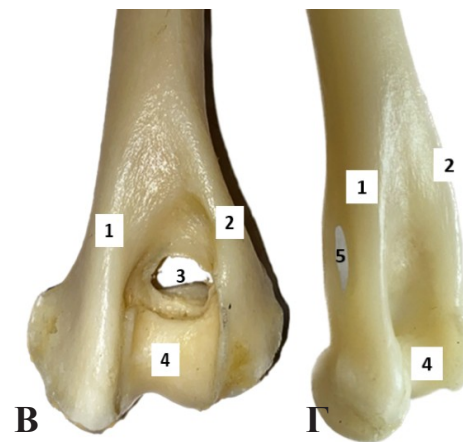


Рисунок 3 – Макроморфологическая и рентгенографическая картина плечевой кости и её дистального эпифиза у кролика (А), кабана (Б), собаки (В) и кошки домашней (Г). Оригинальные макропрепараты. 1 – медиальный надмыщелок; 2 – латеральный надмыщелок; 3 – надблоковое отверстие; 4 – блок плечевой кости; 5 – овальное надмыщелковое отверстие у кошки домашней.

Кроме того, у представителей кошачьих, зайцевых, псовых (шакал), а также шиншиллы, соболя и енота нами обнаружена анатомически оформленная ключица [6], которая находится у них на медиальной поверхности плечевого сустава и имеет различную форму и морфометрические линейные показатели (рис. 5).

При внутривидовой идентификации представителей зайцеобразных (кролик породы советская шиншилла, заяц-русак) объективная информация получена нами при анализе особенностей структурного оформления длинных трубчатых костей.

Изучаемые длинные трубчатые кости

у обоих представителей в рентгеноанатомическом отображении имеют типичную для каждой из них форму, соответствующую скелетированным звеньям и характерное распределение костного вещества в соответствии с испытываемой биомеханической нагрузкой [1]. Эпифизарные отделы представлены губчатым веществом, которое можно отнести у изучаемых зайцеобразных к мелкопетлистому типу, с векторной ориентацией костных балок, формирующих опорно-силовые пучки (рис. 6).

При сравнительном анализе обзорных рентгенограмм у изучаемых зайцеобраз-

ных установлено усиление подчеркнутости наружных и интрасальных контуров и степени развития костно-суставного рельефа у кролика клеточного режима содержания по сравнению с зайцем, что согласуется с данными классической остеометрии [4]. Так, у кролика более мощным

развитием, в сравнении с зайцем, характеризуются костные образования (вертелы) в области проксимального метаэпифиза бедренной кости и усиление рельефа межмышечковой ямки в области дистального эпифиза (рис. 6, рис 8).



Рисунок 4 – Макроморфологическая и рентгенографическая картина костей предплечья у кролика (А), кошки домашней (Б), лошади (В), собаки (Г) и шалайки (Д). Оригинальные макропрепараты. 1 – лучевая кость; 2 – локтевая кость; 3 – межкостное пространство.

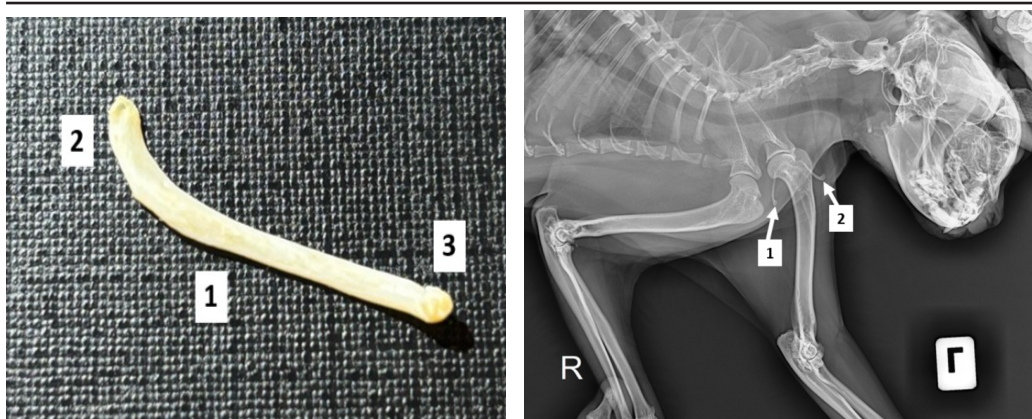


Рисунок 5 – Макроморфологическая и рентгенографическая картина ключицы у кошки домашней. Оригинальный макропрепарат. А – макроморфология ключицы у кошки домашней: 1 – диафиз; 2 – акромимальный эпифиз; 3 – грудинный эпифиз. Б – рентгенографическая картина правой и левой ключицы у кошки домашней: 1 – правая ключица; 2 – левая ключица.



Рисунок 6 – Рентгеноанатомическая картина проксимального метаэпифиза бедренной кости у изучаемых зайцеобразных; А – заяц-русак; Б – кролик 1 – большой вертел; 2 – средний вертел; 3 – третий вертел; 4 – малый вертел; 5 – основной опорно-силовой пучок; 6 – дополнительный пучок; 7 – межвертельный пучок.

У кролика анатомические образования, формирующие костный рельеф, более ярко выражены и подчеркнуты, чем у зайца. Более того, бедренная кость у изучаемых животных характеризуется неодинаковым топическим окончанием большого вертела относительно основной оси вращения тазобедренного сустава. У обоих представителей оно находится выше оси вращения, однако кролик превосходит зайца по цифровым значениям высоты трохантера ($6,5 \pm 0,09$ у кролика против $5,0 \pm 0,07$ у зайца), что может отражать, по

нашему мнению, специфику и неодинаковую степень эффективности функционирования ягодичной группы мышц тазобедренного сустава (рис. 6).

При дешифровке костной структуры в области проксимального метаэпифиза большеберцовой кости установлен, аналогично бедренной, мелкопетлистый рисунок спонгиозы и векторная ориентация балочных структур. При сравнительном анализе структуры спонгиозы установлена частичная завершенность ее структурного формирования к исследуемому пе-

риоду онтогенеза у кролика по сравнению с зайцем, что подтверждается чередованием в губчатом веществе грацильных и утолщенных балочных структур. У зайца, в отличие от кролика костная структура в области метаэпифиза большеберцовой кости однородна по денситометрическим характеристикам, что отражает процесс относительной стабилизации дефинитивного формообразования кости (рис. 7).

Важно подчеркнуть, что заяц-русак превосходит кролика по степени развития спонгиоза: у него балочные структуры завершаются не только в области эпифиза, но и распространяются на диафизарные отделы кости, в то время как у кролика они, утолщаясь, ограничиваются областью метаэпифиза [3].

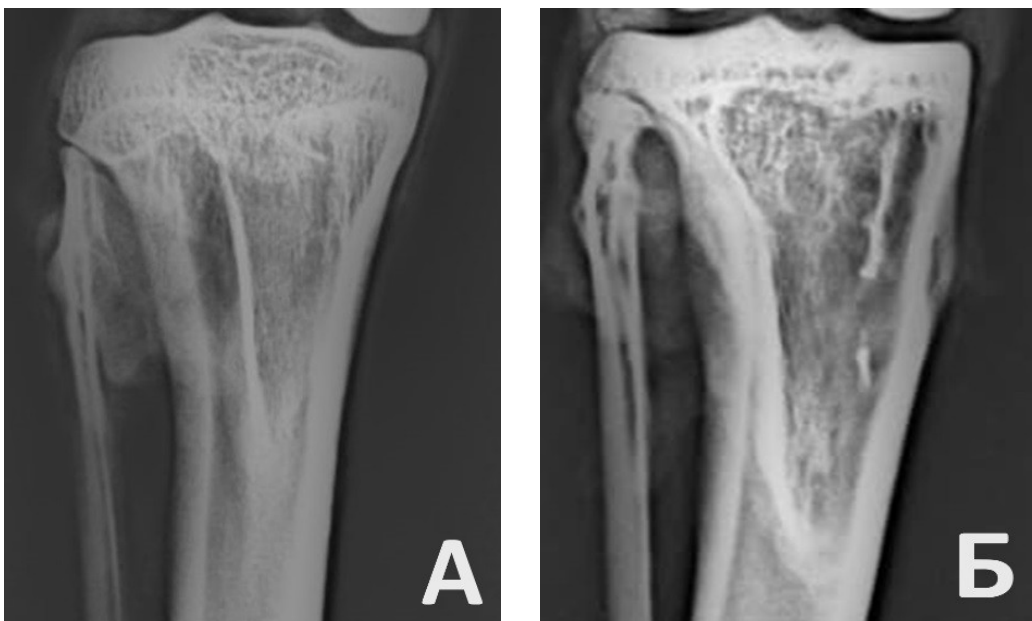


Рисунок 7 – Рентгеноанатомическая картина проксимального метаэпифиза большеберцовой кости у изучаемых зайцеобразных; А – заяц-русак; Б – кролик.

Анализ структурного состояния спонгиоза у изучаемых животных показал ее равномерную мелкопетлистую организацию у зайца-русака, в то время как у кролика аналогичного возраста, выявлен переход от мелко- к крупнопетливой с элементами ноздреватости, а также чередование участков разрежения балочных структур с утолщенными локусами.

При изучении денситометрических показателей дистального эпифиза бедренной кости, установлено превосходство по структурной плотности медиального мы-

щелка в сравнении с латеральным у обоих представителей зайцеобразных, что является общей закономерностью для стопходящих животных. Обращает на себя внимание неодинаковая степень выраженности межмышцелковой вырезки у изучаемых зайцеобразных (рис. 8).

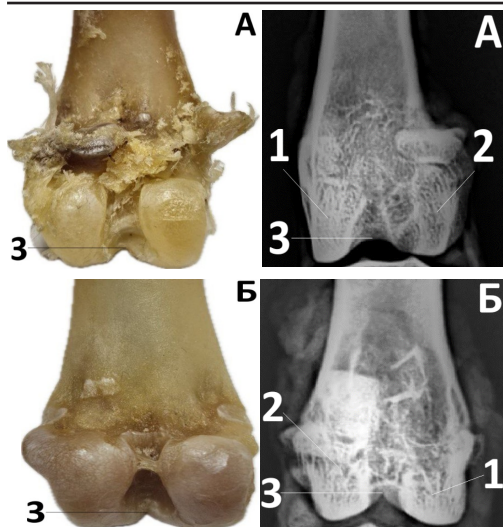


Рисунок 8 – Рентгеноанатомическая картина дистального эпифиза бедренной кости у изучаемых зайцеобразных;

А – заяц-русак; Б – кролик

Более высокая плотность губчатого вещества в медиальном мыщелке бедренной кости (1), по сравнению с латеральным (2); Различие в степени выраженности межмыщелковой вырезки (3).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, на основании морфологических и рентгенографических исследований установлены как общие, так и видоспецифические особенности костного остова грудной и тазовой конечности у изучаемых животных.

На грудной конечности существенные отличия выявлены в строении лопатки, плечевой кости, костей предплечья, а также в анатомическом оформлении ключицы. Показано, что при рентгенографическом исследовании костного остова конечности необходимо учитывать видовые и внутривидовые особенности развития ости лопатки и её бугра, акромиона, бугров плечевой кости, локтевой ямки с надблоковым и надмыщелковым отверстиями, степень развития межкостного пространства предплечья, морфометрических и морфологических показателей ключицы. Выявленные особенности могут служить критериями для определения

вида животного и являются нормой строения у изучаемых животных.

На основании анализа скелета тазовой конечности на примере представителей зайцеобразных выделены ключевые внутривидовые диагностические признаки, включающие морфологические и рентгенографические характеристики. К числу морфологических признаков относятся особенности костного рельефа, высота большого вертела бедренной кости, а также форма межмыщелковой вырезки в области дистального эпифиза. Рентгенографические параметры включают особенности костной структуры спонгиозы, состояние наружных и внутренних контуров.

Указанные признаки обладают высокой информативностью и могут быть использованы при ветеринарной судебной экспертизе в целях видовой и внутривидовой идентификации животного.

Полученные данные могут явиться базовыми при интерпретации рентгенографических картин грудной и тазовой конечностей изучаемых представителей, а также в судебной ветеринарной экспертизе при видовой и внутривидовой идентификации животных.

ANATOMICAL AND TOPOGRAPHIC FEATURES OF FASCIA OF THE GLUTEAL-FEMORAL REGION IN THE COMMON LYNX

Slesarenko N.A.* – Doctor of Biology, Prof. kaf. anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov (ORCID 0000-0002-8350-5965); **Shchetinina E.A.** – student. 4th year of FWM; **Pleshakov F.D.** – ass. department. General pathology (ORCID 0000-0002-4097-2125); **Shirokova E.O.** – Candidate of Biology, Associate Professor of the Faculty. Anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov, (ORCID 0000-0003-4891-5405)

K.I. Scriabin Moscow State Medical University

* slesarenko2009@yandex.ru

ABSTRACT

The improvement of classical and the

development of new methods for diagnosing the condition of the skeletal skeleton of the musculoskeletal system remains one of the urgent problems in the field of clinical anatomy, which is of applied importance for veterinary medicine and veterinary and sanitary expertise. At the same time, when assessing the state of the musculoskeletal system, the parameters of the anatomical norm and its variants are not always taken into account, which simulates numerous diagnostic errors. One of the objective and accessible methods of radiological diagnosis of the state of the osteoarticular system is an overview radiography, which provides objective information about the morphological features of the mineral phase of the bone substance. The article presents X-ray anatomical parameters of the bone skeleton of the thoracic and pelvic limbs of animals of various taxonomic groups. The research was performed at the A. F. Klimov Department of Animal Anatomy and Histology of the Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA named after K. I. Scriabin. The methodological approach used included conventional and fine anatomical dissection, X-ray imaging, radiometry with subsequent determination of bone development indices, comparative X-ray anatomical analysis and statistical processing of the obtained digital data. The aim of the study was to develop an algorithm for X-ray anatomical assessment of the state of the osteoarticular system in animals of various taxonomic groups. X-ray anatomical parameters of the condition of the bone skeleton of the extremities have been established. Along with the general patterns of the anatomical structure, species-specific features have been identified, which are not only an indicator of the norm of the structure, but also its variant, which is extremely important to take into account when deciphering radiographic information. The data obtained can be basic in comparative and clinical anatomy of animals, in identifying pathologies of their musculoskeletal system, as well as in matters of forensic veterinary examination.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Плешаков, Ф. Д. Анатомо-биомеханическая характеристика костного остова свободной тазовой конечности у представителей зайцеобразных / Ф. Д. Плешаков, Н. А. Слесаренко // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2024. – № 1. – С. 53-59. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202401006.
2. Павловская, Е. А. Диагностические критерии рентгенографии и компьютерной томографии при оценке патологий плечевого сустава у собак / Е. А. Павловская, С. В. Позябин, В. С. Старынина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2021. – Т. 245, № 1. – С. 144-149.
3. Плешаков, Ф. Д. Морфо-биомеханические признаки адаптивной пластичности костно-мышечной системы у представителей зайцеобразных / Ф. Д. Плешаков, Н. А. Слесаренко, Е. О. Широкова // Кролиководство и звероводство. – 2024. – № 2. – С. 21-28. – DOI 10.52178/00234885_2024_2_21.
4. Плешаков, Ф. Д. Сравнительная характеристика костного остова тазовой конечности у зайцеобразных / Ф. Д. Плешаков, Н. А. Слесаренко // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, товароведения и экспертизы сырья и продуктов животного и растительного происхождения, зоотехнии и биотехнологии : материалы X научно-практической конференции в рамках XII Всероссийского фестиваля науки : сборник научных трудов студентов и молодых ученых, Москва, 30 ноября 2022 года / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина». – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2022. – С. 128-131.
5. Слесаренко, Н. А. Анатомическое обоснование риска повреждений локтевого

- сустава у животных / Н. А. Слесаренко, Е. О. Широкова, Е. А. Щетинина // Ветеринария и кормление. – 2024. – № 1. – С. 80-84.
6. Слесаренко, Н. А. Анатомофункциональная характеристика ключицы у животных различных таксономических групп / Н. А. Слесаренко, Е. А. Щетинина, Е. О. Широкова // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2024. – № 3(33). – С. 58-64.
7. Стручков, Н. А. Анатомо-топографическое обоснование рентгенографической и компьютерной диагностики патологий автоподия у якутской лошади / Н. А. Стручков, С. В. Полябин, Н. И. Шумаков // Научная жизнь. – 2019. – Т. 14, № 5(93). – С. 774-780. – DOI 10.26088/INOV.2019.93.31141.
8. Февапраситчай, С. Сравнение эффективности рентгенографии и компьютерной томографии при диагностике дисконгруэнтности локтевого сустава у собак / С. Февапраситчай, С. В. Полябин // Ветеринарная патология. – 2020. – № 1(71). – С. 67-72. – DOI 10.25690/VETRAT.2020.1.71.010.
9. Рыбалкин, С. М. Кранио-латеральный и латеральный доступы к тазобедренному суставу с остеотомией большого вертела / С. М. Рыбалкин, М. В. Щипакин // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти доктора биологических наук, профессора, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почётного работника высшего профессионального образования РФ, Почётного профессора Брянской ГСХА, Почётного гражданина Брянской области Егора Павловича Ващекина, Брянск, 22 января 2024 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2024. – С. 117-120.
10. Чумаченко, Б. В. Морфометрия пояса грудной конечности соболя черной пушкинской породы / Б. В. Чумаченко, М. В. Щипакин // Роль ветеринарной науки и образования в современном обществе: к 100-летию Витебской ордена "Знак Почета" государственной академии ветеринарной медицины : Материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 04–05 ноября 2024 года. – Витебск: Витебская государственная академия ветеринарной медицины, 2024. – С. 136-139.
11. Рыбалкин, С. М. Анатомо-топографическое обоснование различных доступов к проксимальному эпифизу большеберцовой кости / С. М. Рыбалкин, М. В. Щипакин, С. И. Мельников // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 224-232. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.224.

REFERENCES

1. Pleshakov, F. D. Anatomical and biomechanical characteristics of the bony skeleton of the free pelvic limb in representatives of hares / F. D. Pleshakov, N. A. Slesarenko // Veterinary, animal science, and biotechnology. – 2024. – No. 1. – pp. 53-59. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202401006.
2. Pavlovskaya, E. A. Diagnostic criteria of radiography and computed tomography in the assessment of shoulder joint pathologies in dogs / E. A. Pavlovskaya, S. V. Pozyabin, V. S. Starynina // Scientific Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2021. – Vol. 245, No. 1. – pp. 144-149.
3. Pleshakov, F. D. Morpho-biomechanical signs of adaptive plasticity of the musculoskeletal system in representatives of hares / F. D. Pleshakov, N. A. Slesarenko, E. O. Shirokova // Rabbit breeding and animal husbandry. – 2024. – No. 2. – pp. 21-28. – DOI 10.52178/00234885_2024_2_21.
4. Pleshakov, F. D. Comparative characteristics of the bony skeleton of the pelvic limb in hares / F. D. Pleshakov, N. A. Slesarenko // Actual problems of veterinary medicine, commodity science and expertise of raw materials and products of animal and plant origin, animal science and biotechnology : proceedings of the X scientific and practical conference within the framework of the XII All-Russian Science Festival : collection of scientific papers of students and young scientists, Moscow, November 30, 2022 / Ministry of Agriculture of the

- Russian Federation; Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K.I. Scriabin. Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Scriabin", 2022. pp. 128-131.
5. Slesarenko, N. A. Anatomical justification of the risk of injury to the elbow joint in animals / N. A. Slesarenko, E. O. Shirokova, E. A. Shchetinina // *Veterinary medicine and feeding*. - 2024. - No. 1. - pp. 80-84.
6. Slesarenko, N. A. Anatomical and functional characteristics of the clavicle in animals of various taxonomic groups / N. A. Slesarenko, E. A. Shchetinina, E. O. Shirokova // *Current issues of agricultural biology*. - 2024. - № 3(33). - Pp. 58-64.
7. Struchkov, N. A. Anatomical and topographic substantiation of radiographic and computer diagnostics of autopodia pathologies in the Yakut horse / N. A. Struchkov, S. V. Pozyabin, N. I. Shumakov // *Scientific life*. - 2019. - Vol. 14, No. 5(93). - pp. 774-780. - DOI 10.26088/INOБ.2019.93.31141.
8. Fevaprasitchai, S. Comparison of the effectiveness of radiography and computed tomography in the diagnosis of elbow joint discongruence in dogs / S. Fevaprasitchai, S. V. Pozyabin // *Veterinary pathology*. - 2020. - № 1(71). - Pp. 67-72. - DOI 10.25690/VETPAT.2020.1.71.010.
9. Rybalkin, S. M. Cranio-lateral and lateral access to the hip joint with osteotomy of the large trochanter / S. M. Rybalkin, M. V. Shchipakin // *Actual problems of intensive development of animal husbandry : An international scientific and practical conference dedicated to the memory of Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, Honorary Worker of higher professional education Russian Federation, Honorary Professor of the Bryansk State Agricultural Academy, Honorary Citizen of the Bryansk region Egor Pavlovich Vashchekin, Bryansk, January 22, 2024*. Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2024. pp. 117-120.
10. Chumachenko, B. V. Morphometry of the thoracic limb belt of the black Pushkin sable / B. V. Chumachenko, M. V. Shchipakin // *The role of veterinary science and education in modern society: on the 100th anniversary of the Vitebsk Order of the Badge of Honor of the State Academy of Veterinary Medicine Medicine : Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, Vitebsk, November 04-05, 2024*. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 2024, pp. 136-139.
11. Rybalkin, S. M. Anatomical and topographic substantiation of various accesses to the proximal epiphysis of the tibia / S. M. Rybalkin, M. V. Shchipakin, S. I. Melnikov // *International Bulletin of Veterinary Medicine*. - 2024. - No. 1. - pp. 224-232. - DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.224.

УДК: 639.331.7

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.258

АНАЛИЗ ПАТТЕРНОВ ЛИПИДНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ ПРИ СТЕАТОЗЕ МАКРОВЕЗИКУЛЯРНОГО ТИПА У КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО (*CYPRINUS CARPIO*)

Семенова Е.В.* – асп., мл. науч. сотр. лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики. (ORCID 0000-0003-3675-5467);

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт патологии,
фармакологии и терапии»

* elenasemyonova5@gmail.com

Ключевые слова: аквакультура, промысловое рыбоводство, карп обыкновенный, жировая дистрофия печени.

Keywords: aquaculture, commercial fish farming, common carp, liver steatosis.

Поступила: 25.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Макровезикулярный стеатоз представляет собой распространенную патологию печени карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*). Выявление и количественная оценка специфических маркеров макровезикулярной трансформации печеночной ткани карпа обыкновенного позволит оптимизировать методы профилактики и терапевтической коррекции данной патологии в условиях интенсивной аквакультуры, что имеет существенное экономическое значение для рыбоводческой отрасли. Целью работы являлось проведение количественного анализа паттернов липидной инфильтрации при стеатозе макровезикулярного типа у карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*). В исследовании использовали 20 особей карпа обыкновенного массой 800-900 г., выращенных на базе АО «Рыбопитомник» Воронежской области. Для моделирования острой фазы воспаления гидробионты были разделены на 2 группы: контрольную (n=10) и опытную группу (n=10), содержащуюся в водной среде с добавлением сульфата меди II ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) при концентрации 60 мг/л в пересчете на ион металла. Отбор биологического материала исследуемых особей из каждой группы (n=10) будет производиться через 56 часов после начала эксперимента. Для подтверждения жировой дистрофии из отобранных образцов печени изготавливали срезы на замораживающем микротоме, которые окрашивали составным красителем из Судана III и шарлаха красного для выявления нейтральных жиров в гепатоцитах. Все окрашенные препараты заключали в водорастворимую глицерин-желатиновую среду и так же просматривали в светооптическом микроскопе. Количественный анализ показывает преобладание жировых включений над функциональной паренхимой печени, что нарушает работу органа. Комбинированный подход, сочетающий классические гистологические методы с современным количественным анализом, может быть эффективен для диагностики патологий печени рыб и рекомендуется для внедрения в ветеринарных лабораториях.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION.

Макровезикулярный стеатоз представляет собой распространенную патологию печени карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*) [1]. Системный анализ паттернов липидной инфильтрации имеет решающее значение для понимания механизмов гепатопатии. Выявление и количественная оценка специфических маркеров макровезикулярной трансформации печеночной ткани карпа обыкновенного позволит оптимизировать методы профилактики и терапевтической коррекции данной патологии в условиях интенсивной аквакультуры, что имеет существенное экономическое значение для рыбоводческой отрасли. Целью работы являлось проведение количественного анализа паттернов липидной инфильтрации при стеатозе макровезикулярного типа у карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*). Данное исследование имеет большое значение для ихтиопатологии и аквакультуры, так как печень является центральным органом метаболизма у рыб, и её патологические изменения могут служить индикатором неблагоприятных экологических условий или нарушений в технологии выращивания карпов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В исследовании использовали 20 особей карпа обыкновенного массой 800-900 г., выращенных на базе АО «Рыбопитомник» Воронежской области. Лабораторные исследования проводили на базе лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и моделирования живых систем. Для моделирования острой фазы воспаления гидробионты были разделены на 2 группы: контрольную (n=10) и опытную группу (n=10), содержащуюся в водной среде с добавлением сульфата меди II ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) при концентрации 60 мг/л в пересчете на ион металла. Отбор биологического материала исследуемых особей из каждой группы (n=10) будет производиться через 56 часов после начала эксперимента.

Для проведения морфологических исследований тканей были отобраны образцы печени карпов, которые фиксировали в 10 %-ом растворе нейтрального формалина. Затем образцы тканей обезживали в растворах этилового спирта возрастающей концентрации и уплотняли парафином. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином и просматривали. Для подтверждения жировой дистрофии из отобранных образцов печени изготавливали срезы на замораживающем микротоме, которые окрашивали составным красителем из Судана III и шарлаха красного для выявления нейтральных жиров в гепатоцитах. Все окрашенные препараты заключали в водорастворимую глицерин-желатиновую среду и так же просматривали в светооптическом микроскопе. Измерение гистоморфометрических показателей препаратов производилось с использованием инструментов программной обработки изображений OMERO v5.6. и Orbit image analysis v 3.64. Преобразование и визуализация данных была выполнена с помощью общедоступного пакета cluster v 2.1.4 [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Морфологическое исследование гистологического препарата контрольной группы (рисунок 1А) демонстрирует сохранность структуры органа. Клетки печени имеют полигональную форму с четкими границами, однородной цитоплазмой и центрально расположенными ядрами. Ядра гепатоцитов округлой формы, расположены центрально, хроматин равномерно распределен. Синусоидные капилляры хорошо определяются между печеночными балками, имеют нормальную ширину и содержат умеренное количество клеток Купфера. Портальные триады четко визуализируются по периферии печеночных долек. Это подтверждается отсутствием обилия липидных включений при окраске составным красителем из Судана III и шарлаха красного (рисунок 1Б).

Микропрепарат печени опытной группы (рисунок 1В) демонстрирует

наличие макровезикулярного стеатоза, характеризующегося патологической аккумуляцией липидных включений в цитоплазматическом компартменте гепатоцитов. Ядра клеток печени проявляют выраженную гиперхромность с дислокацией к периферии, что является следствием компенсаторно-адаптивных механизмов в условиях хронического повреждения паренхимы органа [3]. На некоторых участках отмечается кариопикноз, характеризующий начальные стадии апоптоза или

некроза. Архитектоника цитоплазмы характеризуется неоднородностью что, по мнению Roh H., может свидетельствовать о повреждениях митохондрий и эндоплазматического ретикулина в результате окислительного стресса, проводящего к накоплению дефектных белков и липидов в гепатоцитах [4]. Окраска составным красителем из Судана III и шарлаха красного (рисунок 1Г) подтверждает диффузное поражение печени, выявляя вакуолизацию клеток.

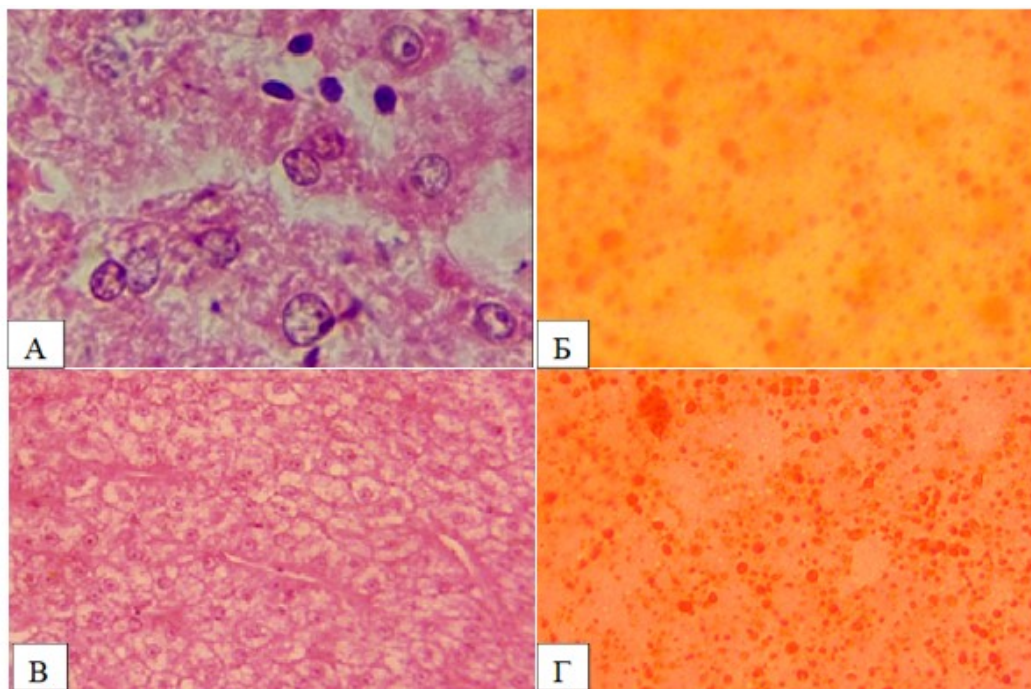


Рисунок 1 – Микрофотографии структуры печени карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*). А- сохранная структура органа контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином, ув. х400. Б – отсутствие обилия липидных включений в печени контрольной группы. Окр. судан III + шарлах красный, ув. ок. 8, об.40. В – среднекапельная жировая дистрофия. Окраска гематоксилин-эозином, ув. х400. Г – среднекапельная диффузная жировая дистрофия в печени. Окр. судан III + шарлах красный, ув. ок. 8, об.40.

Проведенный количественный анализ липидных включений контрольной и опытной группы (рисунок 2 А, Б) визуализирует соотношение между жировыми каплями и паренхимой печени. Средние значения интенсивности хроматических

показателей жировых капель контрольной группы находились в диапазоне от 90 до 125 единиц, тогда как опытная группа демонстрировала значения превышающие 140 единиц. Повышение базового уровня интенсивности меньшая варибельность

показателей жировых каплей, а также более четкий паттерн ритма колебаний в опытной группе указывает на формирование характерного для стеатоза диффузного накопления липидов. Оценка соотношения максимальных и минимальных размеров включений (рисунок 2 В, Г) дополняет количественный анализ, демонстрируя разнообразие интенсивности ли-

пидных каплей. Разница в показателях паренхимы печени свидетельствует о неоднородности сохранившейся функциональной структуры печени опытной группы на фоне вытеснения цитоплазмы гепатоцитов жировыми каплями, что согласуется с морфологическим исследованием, описанным выше.

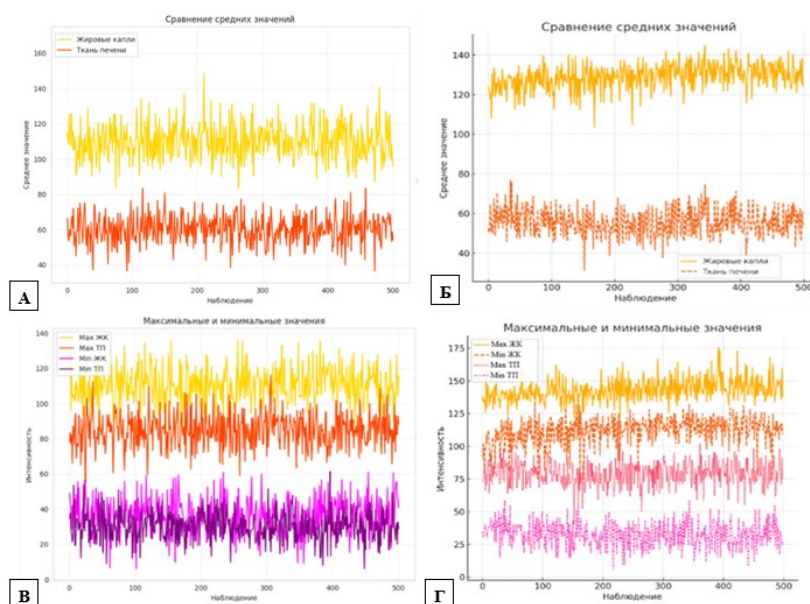


Рисунок 2 – Количественный анализ липидных включений. А, Б – Оценка средних значений интенсивности хроматических показателей жировых каплей и паренхимы печени контрольной и опытной групп. В, Г – Оценка соотношения максимальных и минимальных размеров включений и паренхимы печени контрольной и опытной групп. ЖК – жировые капли, ТП – ткань печени.

Для объективизации степени липидной инфильтрации в исследуемом гистологическом препарате провели количественную оценку пространственной гетерогенности жировых включений посредством трехмерного картирования коэффициента хроматической дисперсии (КХД) (рисунок 3 А, Б) [4]. В контрольной группе наблюдаются несколько изолированных пиков средней высоты, распределенный неравномерно, что отражает физиологическую вариабельность нормальной ткани. Цветовое распределение демон-

стрирует преобладание зеленого спектра, указывающего на средние значения коэффициента, с относительно равномерным распределением цветов. На рисунке 3Б топография поверхности характеризуется более высокими, четко выраженными и многочисленными пиками, которые имеют упорядоченный характер возвышений. Чередование участков с различной интенсивностью инфильтрации подтверждает диффузный характер поражения с вовлечением большей части паренхимы печени, что соответствует выше представленным рисункам 1 и 2.

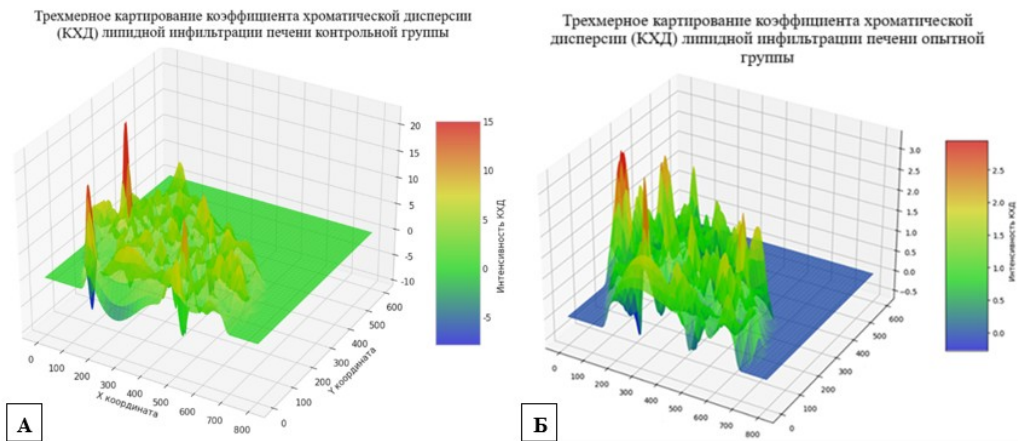


Рисунок 3 – Трехмерное картирование коэффициента хроматической дисперсии липидной инфильтрации печени карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*).
А - контрольной группы, Б - опытной группы

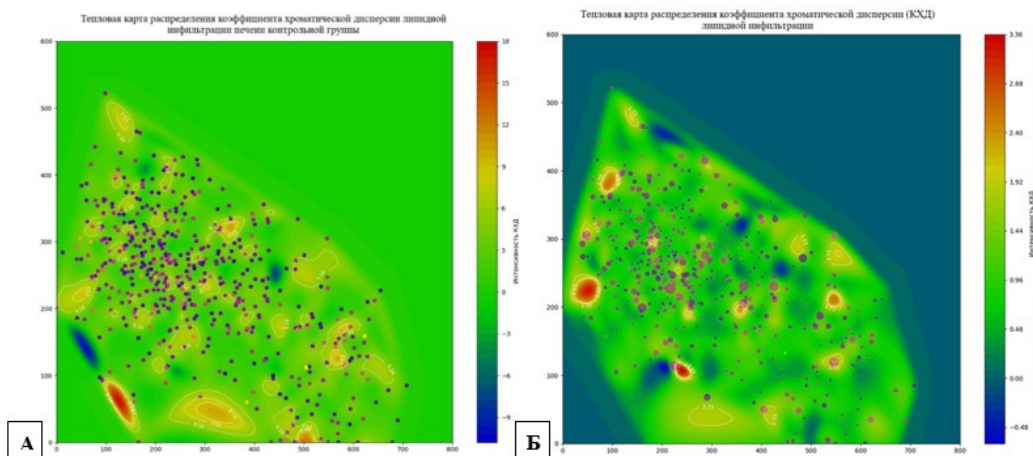


Рисунок 4 – Тепловая карта распределения коэффициента хроматической дисперсии липидной инфильтрации печени карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*).
А - контрольной группы, Б - опытной группы

Представленная тепловая карта распределения коэффициента хроматической дисперсии липидной инфильтрации (рисунок 4 А, Б) дополняет и уточняет вышеописанные данные, предоставляя двумерную топографическую визуализацию патологического процесса. На рисунке 4 А тепловая карта контрольной группы демонстрирует относительно однородное распределение значений КХД с пре-

обладанием зеленого фона, желтые участки очагов повышенных значений немногочисленны, имеют небольшой размер и равномерно распределены по ткани, что соответствует нормальному физиологическому состоянию паренхимы.

На тепловой карте опытной группы отчетливо визуализируются очаги высокой интенсивности липидной инфильтрации, представленные красными зонами с

КХД 2.40-3.36, распределенные по всей паренхиме печени. Эти очаги соответствуют пикам на трехмерной карте и зонам наиболее интенсивного накопления жира, видимым на гистологических препаратах при окраске составным красителем из Судана III и шарлаха красного. Стоит отметить отдельные синие зоны с отрицательными значениями КХД, которые соответствуют участкам паренхимы с нормальной структурой или пониженной восприимчивостью к развитию жировой дистрофии. Наличие этих областей, не обнаруживавшихся при анализе только гистологических препаратов и средних количественных показателей, поэтому имеет особое значение для прогнозирования потенциала регенерации печени при устранении патогенных факторов.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Количественные показатели подтверждают, что объем жировых включений у опытной группы значительно превышает объем сохранившейся функционально активной паренхимы печени, что неизбежно приводит к нарушению функциональной активности органа. Такая степень поражения свидетельствует о серьезных метаболических нарушениях в печени карпа и может служить индикатором неблагоприятных условий содержания или заболевания рыб. Отсутствие значительных колебаний в соотношении жировых капель и паренхимы свидетельствует о хроническом течении патологического процесса, что может быть результатом продолжительного воздействия неблагоприятных факторов, таких как несбалансированное питание, токсическое воздействие или хронические инфекции. Методологический подход, включающий последовательную интеграцию классических гистологических методов с современными методами количественного анализа и пространственной визуализации, демонстрирует высокую эффективность в диагностике патологических изменений печени рыб и может быть рекомендован для внедрения в практику ветеринарных лабораторий, занимающихся проблемами здоровья гидробионтов.

ANALYSIS OF LIPID INFILTRATION PATTERNS IN MACROVESICULAR HEPATOPATHY IN COMMON CARP (CYPRINUS CARPIO)

Semenova E.V.* – graduate student, Junior researcher, Laboratory of Innovative Recombinant Proteomics. (ORCID 0000-0003-3675-5467);

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy (ARVRIPP&T)

*elenasemyonova5@gmail.com

ABSTRACT

Macrovesicular steatosis is a common liver pathology of common carp (*Cyprinus carpio*). Detection and quantitative assessment of specific markers of macrovesicular transformation of liver tissue of common carp will allow to optimize methods of prevention and therapeutic correction of this pathology in conditions of intensive aquaculture, which is of significant economic importance for the fish farming industry. The aim of the work was to conduct a quantitative analysis of lipid infiltration patterns in macrovesicular steatosis in common carp (*Cyprinus Carpio*). The study used 20 common carp individuals weighing 800-900 g, grown at the JSC "Fish Nursery" in the Voronezh Region. To simulate the acute phase of inflammation, the aquatic organisms were divided into 2 groups: the control group (n=10) and the experimental group (n=10) contained in an aquatic environment with the addition of copper sulfate II ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) at a concentration of 60 mg/l in terms of the metal ion. Biological material from the studied individuals from each group (n=10) will be collected 56 hours after the start of the experiment. To confirm fatty degeneration, sections were made from the selected liver samples on a freezing microtome, which were stained with a composite dye of Sudan III and scarlet red to identify neutral fats in hepatocytes. All stained preparations were enclosed in a water-soluble glycerin-gelatin medium and also viewed under a light microscope. Quantitative analysis shows the predominance of fatty inclusions over the functional parenchyma of the liver, which

disrupts the functioning of the organ. A combined approach combining classical histological methods with modern quantitative analysis may be effective for diagnosing fish liver pathologies and is recommended for implementation in veterinary laboratories.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Семенова, Е. В. Об актуальности исследования патогенеза и профилактики гепатозов в аквакультуре Воронежской области / Е. В. Семенова // Инновационные тенденции развития Российской науки: Материалы XVII международной научно-практической конференции молодых ученых, Красноярск, 04–06 марта 2024 года. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2024. – С. 198–201. – EDN CMIJXW.
2. Maechler, M., Rousseeuw, P., Struyf, A., Hubert, M., Hornik, K. (2022). cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions. R package version 2.1.4.
3. Eriegha O. J. Histopathology of Selected Economically Important Fish Species from the Escravos Estuary, Nigeria: A Baseline Study for Environmental Monitoring / Eriegha O. J. // International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. - №9. – 2024. – P. 118.
4. Roh H. Overfeeding Overfeeding-Induced Obesity Could Cause Potential Immuno-Physiological Disorders in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) / H. Roh // Animals. - 2020. - №10. - P.1499.
5. Ван Дж., Ли К. Количественный анализ опухолей печени на разных стадиях с ис-

пользованием технологии микроскопической гиперспектральной визуализации // Журнал биомедицинской оптики. – 2018. – Т. 23. – No 10. – С. 106002-106002.

REFERENCES

1. Semenova, E. V. On the relevance of studying the pathogenesis and prevention of hepatosis in aquaculture in the Voronezh region / E. V. Semenova // Innovative trends in the development of Russian science: Proceedings of the XVII international scientific and practical conference of young scientists, Krasnoyarsk, March 4–6, 2024. – Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Agrarian University, 2024. – P. 198–201. – EDN CMIJXW.
2. Maechler, M., Rousseeuw, P., Struyf, A., Hubert, M., Hornik, K. (2022). cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions. R package version 2.1.4.
3. Eriegha O. J. Histopathology of Selected Economically Important Fish Species from the Escravos Estuary, Nigeria: A Baseline Study for Environmental Monitoring / Eriegha O. J. // International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. - №9. – 2024. – P. 118.
4. Roh H. Overfeeding Overfeeding-Induced Obesity Could Cause Potential Immuno-Physiological Disorders in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) / H. Roh // Animals. - 2020. - №10. - P.1499.
5. Wang J., Li K. Quantitative Analysis of Liver Tumors at Different Stages Using Microscopic Hyperspectral Imaging Technology // Journal of Biomedical Optics. – 2018. – Т. 23. – No. 10. – P. 106002-106002.

УДК: 547.1/5:616.61-092:577.21

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.265

ДОЗОЗАВИСИМЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОЧКАХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИДРОКСИДА АЛЮМИНИЯ

Якупова Т.Г.^{1*} – млад. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1236-8246);
Смолянкин Д.А.¹ – млад. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-7957-2399);
Валова Я.В.¹ – канд. биол. наук, зав. лабораторией (ORCID 0000-0001-6605-9994);
Каримов Д.Д.¹ – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1962-2323);
Кулагин Е.А.¹ – аспирант (ORCID 0009-0002-2117-5419); Мухаммадиева Г.Ф.¹ – канд.
биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-7456-4787); Каримов Д.О.^{1,2} – канд. мед.
наук, зав. отделом (ORCID 0000-0003-0039-6757)

¹ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»

²ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья имени Н.А. Семашко»

* – tanya.kutlina.92@mail.ru

Ключевые слова: гидроксид алюминия, почки, хроническая интоксикация, нефротоксичность, интерстициальный нефрит, фиброз, гломерулонефрит.

Keywords: aluminum hydroxide, kidneys, chronic intoxication, nephrotoxicity, interstitial nephritis, fibrosis, glomerulonephritis.

Поступила: 01.02.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Алюминий — один из наиболее распространённых элементов земной коры, активно используемый в промышленности, быту и медицине. Несмотря на широкое применение, его потенциальная токсичность остаётся предметом интенсивных научных исследований и дискуссий. Основными путями поступления алюминия в организм человека являются пищевая продукция, питьевая вода, вдыхаемый воздух и лекарственные препараты, что способствует его накоплению в биологических тканях и увеличивает риск хронической интоксикации. Особенно уязвимыми считаются дети, а также пациенты с нарушенной функцией выделительной системы, в первую очередь почек. Целью настоящего исследования было оценить влияние хронического воздействия гидроксида алюминия на морфологию почек крыс и уровень экспрессии генов *Mt1a*, *Mt2a* и *Mt3a*, с акцентом на выявление дозозависимых эффектов и патогенетических механизмов нефротоксичности. Эксперимент был проведён на 40 самках белых крыс, разделённых на контрольную и четыре опытные группы (по 8 животных). В течение 4 месяцев опытные группы ежедневно получали гидроксид алюминия *per os* в различных дозах. Оценка токсичности включала количественный анализ экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени и гистологическое исследование почечной ткани. Экспрессия *Mt2a* и *Mt3a* значимо возрастала при высоких дозах алюминия ($p < 0,001$), тогда как *Mt1a* проявлял высокую межиндивидуальную вариабельность. Морфологически выявлены признаки интерстициального воспаления, фиброза и хроническо-

го гломерулонефрита. Хроническое воздействие гидроксида алюминия индуцирует выраженные дозозависимые морфологические и молекулярные изменения в почках. Гены *Mt2a* и *Mt3a* могут рассматриваться в качестве перспективных молекулярных маркеров алюминий-ассоциированной нефротоксичности.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Алюминий является одним из самых распространенных элементов на Земле, его соединения широко применяются в промышленности, быту и медицине. Однако, несмотря на активное использование, его потенциальная токсичность остается предметом научных дискуссий. В последние десятилетия были разработаны и пересмотрены нормативные руководства, регулирующие допустимые уровни воздействия алюминия, однако вопросы его накопления в организме и долгосрочного влияния на здоровье продолжают оставаться актуальными [1]. Алюминий естественным образом высвобождается в окружающую среду в результате выветривания минералов и вулканической активности [2], однако антропогенные источники также вносят значительный вклад в его распространение. Производственные выбросы, использование алюминия в качестве катализатора, очистка питьевой воды с применением его соединений, пищевая упаковка и фармацевтические препараты значительно увеличивают поступление алюминия в организм человека [3; 4]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), общее поступление алюминия из всех возможных источников (вода, пища, воздух) варьирует от 11 до 136 мг в неделю, что сопоставимо или превышает допустимую недельную дозу (PTWI), установленную ЖЕЦФА на уровне 2 мг/кг массы тела [5; 6; 7]. Почки являются одним из основных органов накопления алюминия. Хроническое воздействие этого элемента может вызывать нефротоксичность, которая проявляется развитием воспалительных и фибротических процессов, изменением морфологии почечной ткани и нарушением ее функции. Однако точные механизмы нефротоксического действия алюминия изучены недостаточно, а существующие данные остаются фрагментарными.

На сегодняшний день данные о меха-

низмах нефротоксичности алюминия остаются фрагментарными. Вопрос о дозозависимом влиянии гидроксида алюминия на почечную ткань, в частности, на развитие фибротических и воспалительных процессов, изучен недостаточно. Неясно, какие молекулярные пути играют ключевую роль в ответе почек на хроническое воздействие алюминия и могут ли металлотионеины служить потенциальными маркерами токсичности.

В данной работе исследуется влияние хронического воздействия гидроксида алюминия на морфологическое состояние почек крыс и экспрессию генов *Mt1a*, *Mt2a* и *Mt3a* с целью выявления дозозависимых изменений и возможных механизмов нефротоксичности.

В отличие от большинства работ, сосредоточенных на острых или субхронических эффектах алюминия, данное исследование направлено на изучение долгосрочного воздействия гидроксида алюминия при различных уровнях экспозиции. Ключевой особенностью исследования является комплексный подход, включающий гистоморфологический анализ и молекулярно-генетические методы, что позволяет не только выявить морфологические изменения в почках, но и оценить вовлеченность металлотионеинов в процессы адаптации и повреждения ткани. Цель исследования заключалась в оценке влияния хронического воздействия гидроксида алюминия на морфологическое состояние и экспрессию генов *Mt1a*, *Mt2a* и *Mt3a* в почках крыс, выявлении дозозависимых изменений и потенциальных механизмов нефротоксичности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В эксперименте использовали 40 самок белых аутбредных крыс (масса тела 170–230 г), которые были случайным образом распределены на контрольную (n=8) и четыре опытные группы (n=32). Индивидуальная доза гидроксида алюми-

ния рассчитывалась с учетом массы тела каждой особи. Животные из опытных групп получали раствор гидроксида алюминия per os с помощью зонда 5 раз в неделю в течение 4 месяцев. Контрольная группа содержалась в идентичных условиях без введения тестируемого вещества. По окончании эксперимента проводилась эвтаназия путем ингаляции углекислого газа с последующей декапитацией и изъятием органов для дальнейшего анализа. Все животные содержались в условиях вивария при температуре 20–25°C, влажности 30–70% и 12-часовом световом цикле, уход и кормление соответствовали стандартам ГОСТ 33215-2014, рекомендациям ВОЗ, Европейской конвенции по защите животных и нормативам Минздрава России. Все манипуляции выполнялись в соответствии с принципами биоэтики и гуманного обращения с лабораторными животными, регламентированными Хельсинкской декларацией. Для молекулярно-генетического анализа почки и печень замораживали в жидком азоте и консервировали в лизирующем реагенте Trizol. Экстракцию тотальной РНК проводили с использованием коммерческого набора ExtractRNA (Evrogen, Россия). Реакцию ПЦР в реальном времени выполняли с использованием SYBR Green и специфических праймеров к генам *Mt1a*, *Mt2a*, *Mt3a*, а также референсному гену *Gapdh*. Для гистологического анализа ткани почек, печени и головного мозга фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили стандартную гистологическую обработку и заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 5–7 мкм изготавливали на микротоме MC-2, окрашивали гематоксилином и эозином и анализировали с использованием светового микроскопа Zeiss AXIO Imager.D2 при увеличении $\times 200$ и $\times 400$. Статистический анализ данных проводили с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) и последующего множественного сравнения методом Тьюки. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Анализ экспрессии генов *Mt1a*, *Mt2a* и *Mt3a* в почках крыс после хронического воздействия гидроксида алюминия выявил дозозависимые изменения, различающиеся по выраженности среди исследуемых маркеров (Рис. 1).

Экспрессия *Mt1a* варьировала в широком диапазоне, однако различия между группами не достигли статистической значимости ($F=0,02$, $p=0,999$), что свидетельствует об отсутствии дозозависимого эффекта и высокой индивидуальной вариабельности данного маркера. Максимальные значения экспрессии зарегистрированы в группе 15 мг/кг, однако высокая дисперсия данных указывает на гетерогенность ответа в данной группе.

В отличие от *Mt1a*, экспрессия *Mt2a* продемонстрировала выраженный дозозависимый эффект. В контрольной группе средний уровень экспрессии составил $21,36 \pm 1,08$, тогда как при воздействии 15 мг/кг он увеличился до $25,85 \pm 2,33$. Дисперсионный анализ показал статистически значимые различия между группами ($F=17,16$, $p<0,001$), что свидетельствует о достоверном увеличении экспрессии *Mt2a* под влиянием гидроксида алюминия.

Экспрессия *Mt3a* также увеличивалась с ростом дозы алюминия, однако степень изменений была менее выраженной, чем для *Mt2a*. В контрольной группе среднее значение составило $29,50 \pm 0,97$, тогда как в группе 15 мг/кг экспрессия возросла до $31,53 \pm 0,66$. Статистический анализ выявил значимые различия между группами ($F=6,99$, $p<0,001$), что подтверждает дозозависимое увеличение экспрессии *Mt3a*.

Таким образом, хроническое воздействие гидроксида алюминия индуцирует статистически значимое повышение экспрессии *Mt2a* и *Mt3a*, тогда как *Mt1a* демонстрирует высокую индивидуальную вариабельность без выраженной дозозависимой динамики. Полученные результаты указывают на потенциальную роль *Mt2a* и *Mt3a* как маркеров ответа почечной ткани на воздействие гидроксида алюминия.

Гистологическое исследование почек крыс контрольной группы не выявило патологических изменений: орган сохранял типичную анатомическую структуру, бобовидную форму, гладкую блестящую поверхность, красно-коричневую окраску и плотную консистенцию (Рис. 2).

Макроскопический осмотр показал, что почечная капсула оставалась эластичной, без признаков натяжения, а при разрезе края ткани легко сходились, что свидетельствовало о физиологически нормальных размерах и консистенции органа. Гистологический анализ подтвердил нормальную морфологию тканей: отчетливо дифференцировались корковое и мозговое вещество, причем структурные элементы коры формировали почечные колонки, углубляющиеся в мозговой слой, а мозговое вещество, в свою очередь, формировало характерные лучи. Нефроны имели типичное строение, включая капсулу Шумлянско-Боумана, содержащую клубочек, окруженный двумя эпителиальными слоями. В капиллярных петлях определялись мезангиоциты и

подоциты, участвующие в поддержании клубочковой структуры и фильтрации. Патологических изменений гемоциркуляции, воспалительных инфильтратов, очагов фиброза или атипичной пролиферации клеток не наблюдалось.

У животных, получавших гидроксид алюминия в дозе 0,015 мг/кг, морфология почечной ткани также оставалась неизменной, структура коркового и мозгового вещества соответствовала контрольным образцам (Рис. 3).

Клубочки сохраняли нормальную архитектуру, а эпителий почечных канальцев демонстрировал типичную морфологию: цитоплазма клеток окрашивалась эозинофильно, ядра были округлыми, равномерно гиперхромными, без признаков дегенеративных изменений. Нарушений кровоснабжения, дилатации канальцев или отложений эозинофильного материала в просвете не выявлено.

В группе животных, подвергавшихся воздействию 0,15 мг/кг гидроксида алюминия, были отмечены начальные признаки патологических изменений (Рис. 4).

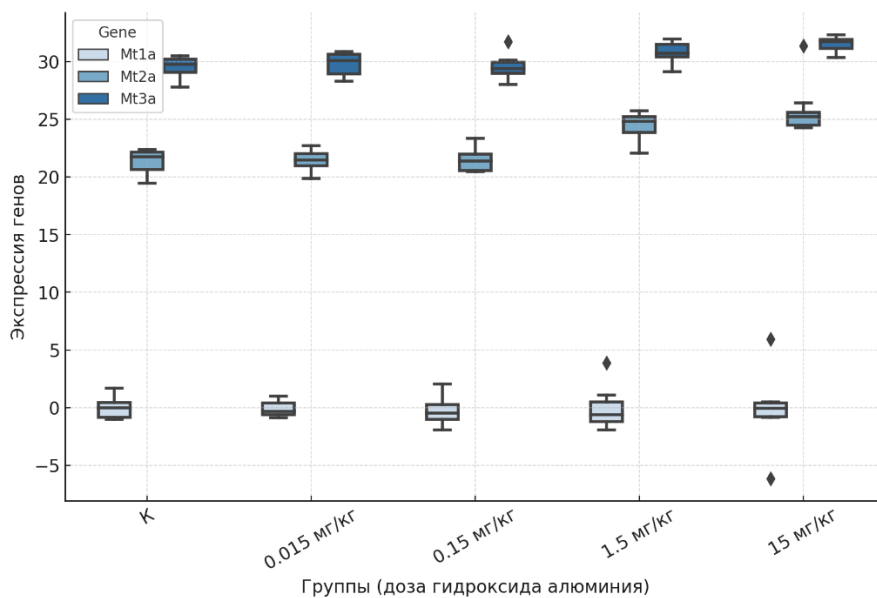


Рисунок 1 – Изменение экспрессии генов *Mt1a*, *Mt2a* и *Mt3a* в почках крыс при хроническом воздействии гидроксида алюминия.

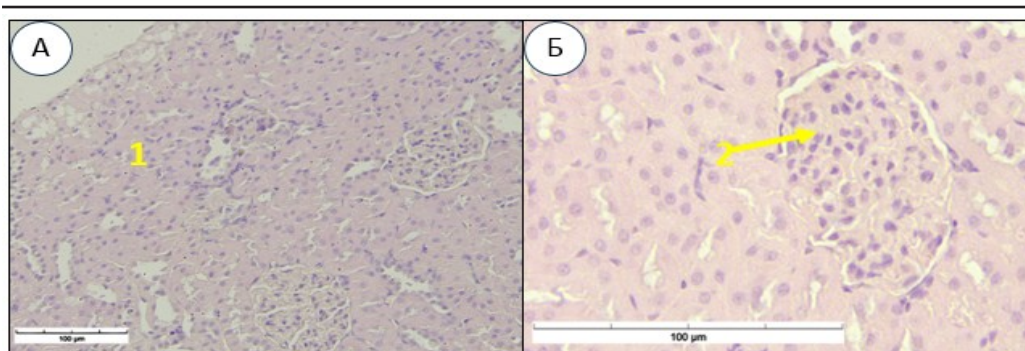


Рисунок 2 – Микрофотография почки крыс контрольной группы. Кортиковое вещество (1) и сосудистый клубочек (2). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X200 (А), увеличение X400 (Б).

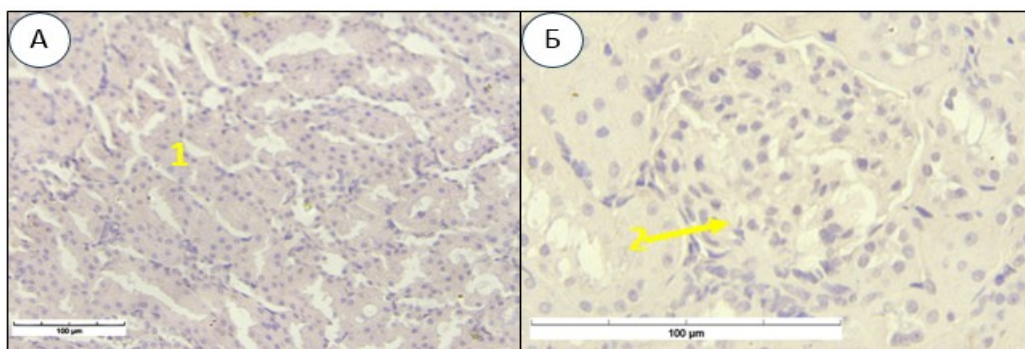


Рисунок 3 – Микрофотография почки крысы, подвергавшейся хроническому воздействию гидроксида алюминия в дозе 0,015 мг/кг м.т. Кортиковое вещество (1) и сосудистый клубочек (2). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X200 (А), увеличение X400 (Б).

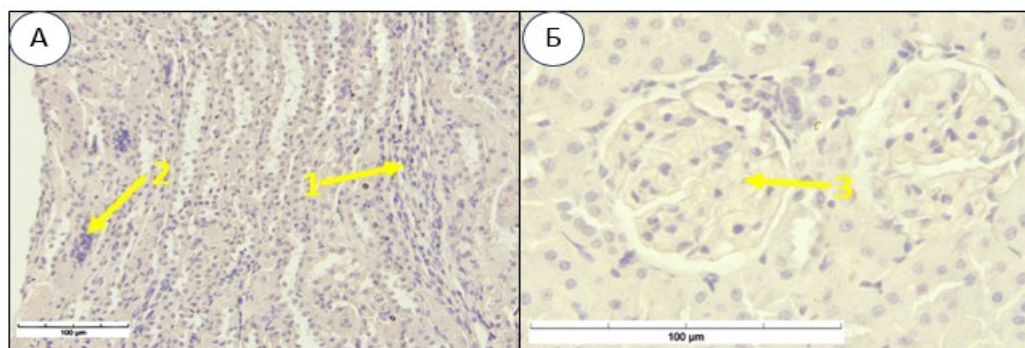


Рисунок 4 – Микрофотография почки крысы, подвергавшейся хроническому воздействию гидроксида алюминия в дозе 0,15 мг/кг м.т. Очаговые фиброзные разрастания (1), участок скопления лейкоцитов (2) и соудистый клубочек (3). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X200 (А), увеличение X400 (Б).

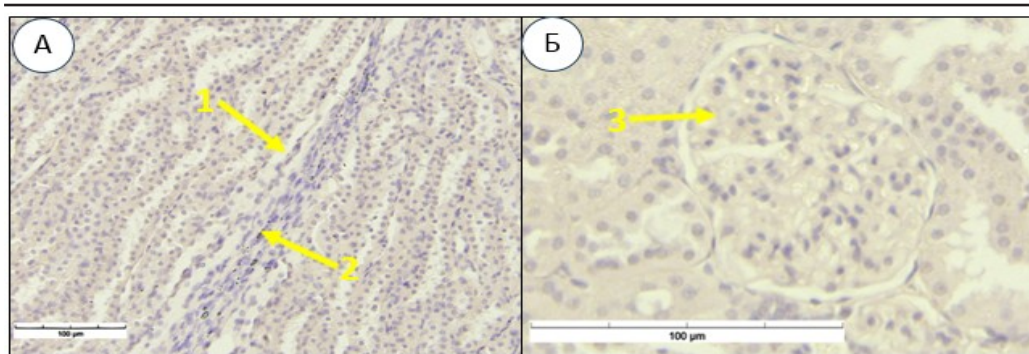


Рисунок 5 – Микрофотография почки крысы, подвергавшейся хроническому воздействию гидроксида алюминия в дозе 1,5 мг/кг м.т. Очаговые разрастания фиброзной ткани (1), лейкоцитарная инфильтрация (2) и сосудистый клубочек (3). Окраска гематоксилин и эозин. Увеличение X200 (А), увеличение X400 (Б).

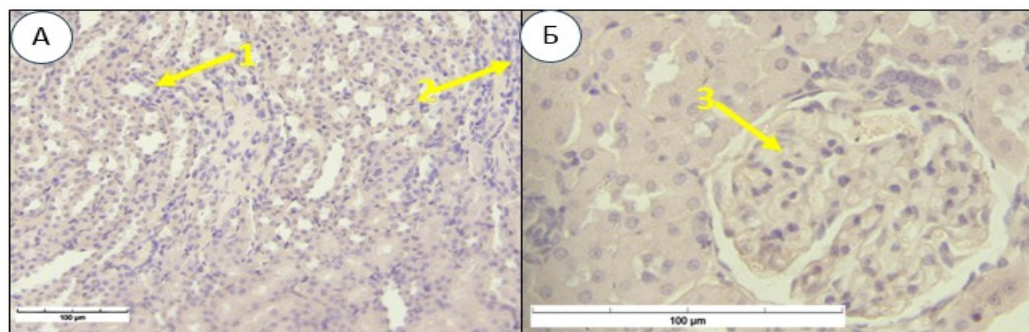


Рисунок 6 – Микрофотография почки крысы, подвергавшейся хроническому воздействию гидроксида алюминия в дозе 15 мг/кг м.т. Кортикальный слой почки с очаговым разрастанием фибринозной ткани (1), лимфоцитарная инфильтрация (2) и сосудистый клубочек (3). Окраска гематоксилин и эозин. Увеличение X200 (А), увеличение X400 (Б).

Несмотря на сохранение общей структуры почки, в корковом слое выявлялись очаги инфильтрации лимфоидными и гистиоцитарными элементами, а в межкапсулярной соединительной ткани наблюдались отложения фиброзных волокон с частичной утратой нормального гистологического рисунка. Клубочковый аппарат сохранял свою организацию, петли клубочков были умеренно кровенаполнены, признаки вакуолярной дегенерации эпителия канальцев отсутствовали.

При хроническом воздействии гидроксида алюминия в дозе 1,5 мг/кг отмечены более выраженные патологические изменения (Рис. 5).

В мозговом веществе обнаружены

очаговые разрастания фиброзной ткани, сопровождающиеся инфильтрацией лимфоидными и гистиоцитарными элементами. В некоторых клубочках отмечено уменьшение полости капсулы, утолщение стенок капиллярных петель с одновременным сужением их просвета, что может свидетельствовать о начальных проявлениях гломерулярной гиперплазии. Отмечено скопление лейкоцитов в капиллярных петлях, что свидетельствует о развитии воспалительных процессов.

В группе животных, получавших 15 мг/кг гидроксида алюминия, выявлены наиболее выраженные изменения (Рис. 6). В корковом веществе выявлены участки разрастания волокнистой соединительной

ткани; в более крупных очагах отмечалось полное разрушение тубулярно-гломерулярной структуры с замещением её плотными фибробластическими комплексами и коллагеновыми волокнами.

В отдельных клубочках отмечались признаки хронического гломерулонефрита: утолщение стенок капиллярных петель за счёт пролиферации клеточных элементов и утолщения базальной мембраны, сужение сосудистого просвета, а также их приближение к париетальному листку капсулы Боумена, что сопровождалось уменьшением капсулярного пространства и нарушением процессов ультрафильтрации.

Таким образом, при хроническом воздействии гидроксида алюминия в дозах 0,15–15 мг/кг наблюдалась прогрессирующая воспалительная пролиферация соединительной ткани, преимущественно в интерстициальных пространствах между почечными канальцами коркового и мозгового слоёв. Дозозависимый эффект выражался в формировании очагов интерстициального нефрита с последующим развитием фиброза и склероза почечной паренхимы, что может приводить к постепенной утрате функциональной активности органа. В высоких дозах (от 1,5 мг/кг) выявлены морфологические признаки хронического гломерулонефрита, проявляющиеся пролиферацией мезангиальных и эндотелиальных клеток (гиперплазией гломерулярного аппарата), а также нарушением сосудистой архитектоники в виде утолщения и деформации капиллярных петель, что может свидетельствовать о нарушении фильтрационной способности почек.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Настоящее исследование детализирует дозозависимые эффекты хронического воздействия гидроксида алюминия на почечную ткань крыс, включая морфологические изменения и изменения экспрессии металлопротеинов *Mt1a*, *Mt2a* и *Mt3a*, тем самым уточняя характер ранее описанных токсических эффектов на клеточном уровне. Выявленные патологические процессы, такие как фиброзные разраста-

ния и воспалительные инфильтраты, согласуются с данными о нефротоксичности алюминия [8; 9].

Анализ экспрессии металлопротеинов показал значительное повышение уровня *Mt2a* и *Mt3a*, подтверждая их роль в ответе на металл-индуцированный стресс [10]. В то же время *Mt1a* демонстрировал высокую вариабельность, что может свидетельствовать об индивидуальной чувствительности к токсическому воздействию [11].

Предполагается, что накопление алюминия способствует развитию окислительного стресса и воспалительной реакции, что может лежать в основе выявленных морфологических изменений [12; 13]. Полученные данные подтверждают, что хроническое воздействие вызывает интерстициальный нефрит и фиброз почечной ткани, прогрессирующий при увеличении дозы [14]. Начальные изменения наблюдались при 0,15 мг/кг, тогда как более высокие дозы (1,5–15 мг/кг) приводили к тяжелым морфологическим нарушениям, включая хронический гломерулонефрит [15].

Таким образом, результаты указывают на значимость *Mt2a* и *Mt3a* как маркеров адаптации к нефротоксичному воздействию алюминия. Дальнейшие исследования необходимы для изучения механизмов регуляции этих белков и разработки стратегий снижения токсичности.

Хроническое воздействие гидроксида алюминия вызывает дозозависимые изменения в почечной ткани крыс, включая интерстициальный нефрит, прогрессирующий фиброз и хронический гломерулонефрит.

Статистически значимое повышение экспрессии *Mt2a* и *Mt3a* подтверждает их роль в защитных механизмах почек при токсическом воздействии металлов, тогда как высокая вариабельность *Mt1a* указывает на индивидуальную чувствительность.

Полученные данные подтверждают нефротоксичность алюминия и необходимость дальнейшего изучения его механизмов воздействия, биомаркеров токсично-

сти и стратегий профилактики повреждения почек.

DOSE-DEPENDENT MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC CHANGES IN THE KIDNEYS OF RATS UNDER CHRONIC EXPOSURE TO ALUMINUM HYDROXIDE

Yakupova T.G.^{1*} – Junior Researcher (ORCID 0000-0002-1236-8246); **Smolyankin D.A.**¹ – Junior Researcher (ORCID 0000-0002-7957-2399); **Valova Ya.V.**¹ – Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory (ORCID 0000-0001-6605-9994); **Karimov D.D.**¹ – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-1962-2323); **Kulagin E.A.**¹ – graduate student (ORCID 0009-0002-2117-5419); **Mukhammadieva G.F.**¹ – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-7456-4787); **Karimov D.O.**^{1,2} – Candidate of Medical Sciences, Head of Department (ORCID 0000-0003-0039-6757)

¹Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology

²National Research Institute of Public Health named after N.A. Semashko

* tanya.kutlina.92@mail.ru

ABSTRACT

Aluminum is one of the most abundant elements in the Earth's crust and is widely used in industry, domestic applications, and medicine. Despite its extensive utilization, its potential toxicity remains a subject of active scientific debate and investigation. The main routes of aluminum entry into the human body include food, drinking water, inhaled air, and pharmaceutical products, all of which contribute to its accumulation in biological tissues and increase the risk of chronic intoxication. Vulnerable populations include children and individuals with impaired renal function, particularly those with chronic kidney disease. The aim of this study was to evaluate the effects of chronic exposure to aluminum hydroxide on kidney morphology and the expression of *Mt1a*, *Mt2a*, and *Mt3a* genes in rats, with an emphasis on

identifying dose-dependent effects and elucidating possible mechanisms of nephrotoxicity. The experiment was conducted on 40 female white rats randomly assigned to one control and four experimental groups (8 animals each). Over the course of four months, the experimental groups received aluminum hydroxide orally in varying doses. Toxicity assessment included quantitative real-time PCR analysis of gene expression and histological examination of renal tissue. Significant upregulation of *Mt2a* and *Mt3a* was observed at higher aluminum doses ($p < 0.001$), while *Mt1a* expression demonstrated high interindividual variability. Histopathological evaluation revealed signs of interstitial inflammation, fibrosis, and chronic glomerulonephritis. Chronic exposure to aluminum hydroxide induces pronounced dose-dependent morphological and molecular changes in the kidney. The *Mt2a* and *Mt3a* genes may serve as promising molecular biomarkers of aluminum-associated nephrotoxicity.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Hachez-Leroy F. Aluminium in health and food: a gradual global approach // Eur. Rev. Hist. – 2013. – Vol. 20, № 2. – P. 217–236.
2. Closset M., et al. Effects of aluminium contamination on the nervous system of freshwater aquatic vertebrates: a review // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 23, № 1. – P. 31–33.
3. Igbokwe I. O., Igwenagu E., Igbokwe N. A. Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects // Interdiscip. Toxicol. – 2019. – Vol. 12, № 2. – P. 45–48.
4. Brusentsova A. V., et al. Hygienic assessment of aluminum intake in the adult population of Western Siberia // Ekologiya cheloveka (Human Ecology). – 2023. – Vol. 30, № 9. – P. 695–706.
5. European Food Safety Authority. Statement of EFSA on the Evaluation of a new study related to the bioavailability of aluminium in food // EFSA J. – 2011. – Vol. 9, № 5. – P. 2157.
6. Osman N. A., et al. Aluminum in food: Dietary exposure among adolescent residents in the food catering establishments in Alex-

- andria, Egypt // Glob. J. Pharm. Educ. Res. – 2017. – Vol. 6, № 1. – P. 2–6.
7. Benford D. J., et al. Aluminium from all sources, including food additives and contaminants (addendum). First draft // WHO Food Addit. – 2007. – Vol. 58. – P. 119–122.
8. Mujika J. I., et al. Aluminium in biological environments: a computational approach // Comput. Struct. Biotechnol. J. – 2014. – Vol. 9, № 15. – P. 1–13.
9. Шугалей И. В. и др. Некоторые аспекты влияния алюминия и его соединений на живые организмы // Экологическая химия. – 2012. – Т. 21, № 3. – С. 168–172.
10. Скупневский С. В., Иванов Д. В. Воздействие алюминия и его соединений на функции органов и тканей человека (обзорная статья) // Вестн. новых мед. технол. Электрон. изд. – 2023. – Т. 17, № 1. – С. 110–124.
11. Hafez H. H., Abd El-Salam A. M., Hamed G. H. Studies on the effect of aluminum, aluminum foil and silicon baked cups on aluminum and silicon migration in cakes // Egypt. J. Agric. Res. – 2018. – Vol. 96, № 2. – P. 565–574.
12. Sanajou S., Şahin G., Baydar T. Aluminium in cosmetics and personal care products // J. Appl. Toxicol. – 2021. – Vol. 41, № 11. – P. 1704–1718.
13. Exley C. Human exposure to aluminium // Environ. Sci.: Process. Impacts. – 2013. – Vol. 15, № 10. – P. 1807–1816.
14. Смолянкин Д. А., Валова Я. В., Кудояров Э. Р., Якупова Т. Г., Ахмадеев А. Р., Гизатуллина А. А., Рафикова Л. А., Репина Э. Ф. Биологические эффекты алюминия на живые системы // Эпоха науки. – 2024. – № 39. – С. 366–373.
15. Yousef M. I., Mutar T. F., Kamel M. A. E. L. N. Hepato-renal toxicity of oral sub-chronic exposure to aluminum oxide and/or zinc oxide nanoparticles in rats // Toxicol. Rep. – 2019. – Vol. 6. – P. 336–346.
- Vandenberghe D., et al. Effects of aluminium contamination on the nervous system of freshwater aquatic vertebrates: a review // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – 23(1): P. 31–33.
3. Igbokwe I.O., Igwenagu E., Igbokwe N.A. Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects // Interdiscip. Toxicol. – 2019. – 12(2): P. 45–48.
4. Brusentsova A.V., Orlova E.Yu., Emel'yanova N.V., Osintsev A.I., Krivoschekov S.G. Hygienic assessment of aluminum intake in the adult population of Western Siberia // Ekologiya cheloveka (Human Ecology). – 2023. – 30(9): P. 695–706.
5. European Food Safety Authority. Statement of EFSA on the Evaluation of a new study related to the bioavailability of aluminium in food // EFSA J. – 2011. – 9(5): P. 2157.
6. Osman N.A., Abou El-Enain A.M., El-Badawy T.H. Aluminum in food: dietary exposure among adolescent residents in the food catering establishments in Alexandria, Egypt // Glob. J. Pharm. Educ. Res. – 2017. – 6(1): P. 2–6.
7. Benford D.J., Bolger P.M., Carthew P., et al. Aluminium from all sources, including food additives and contaminants (addendum). First draft // WHO Food Addit. – 2007. – 58: P. 119–122.
8. Mujika J.I., Lopez X., Ugalde J.M., Exley C. Aluminium in biological environments: a computational approach // Comput. Struct. Biotechnol. J. – 2014. – 9(15): P. 1–13.
9. Shugalei I.V., Ilyin Yu.P., Sokolov A.V., et al. Nekotorye aspekty vliyaniya alyuminiya i ego soedineniy na zhivye organizmy // Ekologicheskaya khimiya. – 2012. – 21(3): S. 168–172. (In Russ.)
10. Skupnevskiy S.V., Ivanov D.V. Vozdeystvie alyuminiya i ego soedineniy na funktsii organov i tkaney cheloveka (obzornaya stat'ya) // Vestn. novykh med. tekhnol. Elektron. izd. – 2023. – 17(1): S. 110–124. (In Russ.)
11. Hafez H.H., Abd El-Salam A.M., Hamed G.H. Studies on the effect of aluminum, aluminum foil and silicon baked cups on aluminum and silicon migration in cakes // Egypt. J. Agric. Res. – 2018. – 96(2): P. 565–574.
12. Sanajou S., Şahin G., Baydar T. Alumin-

REFERENCES

ium in cosmetics and personal care products // J. Appl. Toxicol. – 2021. – 41(11): P. 1704–1718.

13. Exley C. Human exposure to aluminium // Environ. Sci.: Process. Impacts. – 2013. – 15(10): P. 1807–1816.

14. Smolyankin D.A., Valova Ya.V., Kudoyarov E.R., Yakupova T.G., Akhmad-eev A.R., Gizatullina A.A., Rafikova L.A.,

Repina E.F. Biologicheskie efekty al-yuminiya na zhivye sistemy // Epoha nauki. – 2024. – № 39: S. 366–373. (In Russ.)

15. Yousef M.I., Mutar T.F., Kamel M.A.E.L.N. Hepato-renal toxicity of oral sub-chronic exposure to aluminum oxide and/or zinc oxide nanoparticles in rats // Toxicol. Rep. – 2019. – 6: P. 336–346.

УДК: 636.5:612.34:577.15

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.275

ОЦЕНКА ТРИПСИНА В ДУОДЕНАЛЬНОМ СОДЕРЖИМОМ И КРОВИ КУР БИОХИМИЧЕСКИМ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Полина С.И. – асп., асс. каф. физиологии, этологии и биохимии животных (ORCID 0009-0002-7016-8944); **Вертипрахов В.Г.** – д-р биол. наук, зав. каф. физиологии, этологии и биохимии животных (ORCID 0000-0002-3240-7636); **Карамушкина С.В.** – канд. биол. наук, доц. каф. физиологии, этологии и биохимии животных (ORCID 0009-0009-6485-7146); **Лопатина В.В.** – асп., асс. каф. физиологии, этологии и биохимии животных (ORCID 0009-0000-2562-9137); **Загарин А.Ю.** – асп., асс. каф. разведения, генетики и биотехнологии животных, (ORCID 0000-0002-3782-3903)

ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет
– МСХА имени К.А. Тимирязева»

* polina_sveta.93@bk.ru

Ключевые слова: трипсин, куры, экспрессия генов, дуоденальный химус, кровь.
Key words: trypsin, chickens, gene expression, duodenal chyme, blood.

Поступила: 25.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Исследование посвящено оценке активности трипсина в дуоденальном содержимом и крови кур-несушек кросса Hisex White с использованием биохимических и молекулярно-генетических методов. Цель работы — изучение ферментативной активности трипсина и экспрессии его генов (PRSS2, PRSS3) в зависимости от состава рациона. Эксперименты проводились на курах с хронической дуоденальной фистулой, рацион которых соответствовал нормам ВНИТИП (17,7% сырого протеина, 282 ккал/100 г). Все исследования на птице выполняли, руководствуясь требованиями гуманного отношения к животным (Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123) [рус., англ.] (Страсбург 18.03.1986). Активность трипсина в дуоденальном химусе через 60 и 120 минут после кормления составила $2249 \pm 118,6$ и $2368 \pm 122,1$ ед/л соответственно, что указывает на адаптацию поджелудочной железы к белковому компоненту корма. В сыворотке крови активность трипсина достигала $298 \pm 59,9$ ед/л, что в 7,5 раз ниже, чем в кишечнике, но свидетельствует о высоком уровне метаболизма. Молекулярно-генетический анализ подтвердил экспрессию генов PRSS2 и PRSS3 в дуоденальном содержимом и PRSS3 в крови, причем активность PRSS3 в крови была выше, чем в кишечнике. Установлена корреляция между трипсиновой активностью в биологических жидкостях и метаболическими процессами, включая белковый и липидный обмен. Результаты подчеркивают роль трипсина как маркера метаболизма и его регуляторных функций, что важно для оптимизации рационов и оценки селекционных показателей птицы.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Изучением вопроса рециркуляции панкреатических ферментов занимаются несколько поколений физиологов и гастроэнтерологов. Однако до сих пор не получен однозначный ответ на вопрос поступают ли панкреатические ферменты в кровь и возможно ли белковой молекуле проникать через мембрану кишечника? Работами Коротько Г.Ф. (2013), Rothman S. (2016), Можейко Л.А. (2017) [1-3] показано, что панкреатические ферменты проникают в кровь и оказывают влияние на метаболизм животных и человека. В научной литературе есть и противоположное мнение, основывается оно на том, что абсорбция целых панкреатических ферментов в кишечнике имеет ряд препятствий. Во-первых, кишечник обладает очень низкой способностью всасывать цельные белки [4]. Во-вторых, всасывание белка из просвета кишечника может быть опасным с иммунологической и метаболической точек зрения [5]. Способ абсорбции целых ферментов глубоко изучен и может быть кратко описан следующим образом: некоторые количества биологически активного белка или олигопептидов абсорбируются из кишечника, например, бромелайн [6] или диетические биологически активные вещества [7]. Поглощенное количество можно назвать уткой из-за биологического несовершенства слизистой оболочки кишечника. Поступление панкреатических ферментов в кровь связано с определенной ролью их в регуляции метаболизма, поскольку в последние годы получены данные о наличии PAR рецепторов, способных изменять функцию клеток в различных органах и тканях организма к норме и патологии [8].

Целью настоящей работы являлось определение активности трипсина в дуоденальном содержимом и крови с последующим подтверждением экспрессии генов трипсина молекулярным методом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполнялись на курах-несушках (*Gallus gallus* L.) кросса

HisexWhite (n=5, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2024,2025гг.) с хронической дуоденальной фистулой(n=5). Рацион соответствовал требованиям ВНИТИП (2018), содержание сырого протеина составляло 17,7 %, обменной энергии 282 ккал/100 г.

Все исследования на птице выполняли, руководствуясь требованиями гуманного отношения к животным (Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123) [рус., англ.] (Страсбург 18.03.1986).

1. *Хирургические операции* по вживлению дуоденальной фистулы выполняли на курах 20-недельного возраста по методу, разработанному в нашей лаборатории [9]. После восстановления здоровья у кур после хирургической операции, через 3-5 суток приступали к физиологическим опытам. Физиологические опыты выполняли утром натощак. Давали курам по 30 г комбикорма, а через один час собирали дуоденальный химус (0,7-1,0 мл). Центрифугировали с использованием центрифуги erpendorfMiniSpin® plus (Германия) при 7000 об/мин в течение 5 минут и определяли активность ферментов в надосадочной жидкости.

2. Биохимические исследования.

Общий биохимический анализ крови выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе BioChemFC-120 (HTITechnology, США), с использованием реактивов HTI Technology. Активность трипсина определяли по методу Вертипрахова, Грозиной (2018) [10], амилазы и липазы, макроэлементов на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS 3000M (Sinnova, КНР), с использованием реактивов компании (ДИАВЕТ, РФ).

3. Молекулярно-генетические исследования.

3.1. Отбор образцов

Для проведения молекулярно-генетической идентификации биосинтеза сериновых протеаз трипсина в дуоденальном содержимом и крови у кур при соблюдении стерильных условий отбирали

образцы соответствующих жидкостей и стабилизировали с использованием фиксатора IntactRNA («Евроген», Москва, Россия) в соответствии с протоколом производителя препарата. Образцы хранили до проведения лабораторных анализов при -20 °C.

3.2. Выделение РНК и синтез кДНК

Подготовку проб и анализ относительной экспрессии генов осуществляли на базе Учебно-научного центра коллективного пользования – «Сервисная лаборатория комплексного анализа химических соединений» РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Выделение суммарной РНК из образцов проводили с применением набора RNA Solo («Евроген», Москва, Россия), предварительно осуществив гомогенизацию и лизис тканей с применением прибора TissueLyser II (Qiagen, Venlo, Netherlands).

На матрице выделенной РНК синтезировали кДНК с помощью обратной транскриптазы в составе набора Magnus («Евроген», Москва, Россия) на приборе C1000 Touch (Bio-Rad, Berkeley, California, USA). Качество и количество выделенной РНК и синтезированной кДНК анализировали на приборе Fluo-200 (Allsheng, Hangzhou, Китай) с использова-

нием набора QuDu ssDNA (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США).

3.3. ПЦР-РВ (количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени)

Реакцию полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) осуществляли с использованием амплификатора CFX96 Touch (Bio-Rad, Berkeley, California, USA) и набора 5X qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Москва, Россия). В качестве контрольного гена использовали ген «домашнего хозяйства», кодирующий белок β-актин ACTB. Режим амплификации следующий: 3 минуты при 95 °C (предварительная денатурация); 30 секунд при 95 °C, 30 секунд при 60 °C, 30 секунд при 72 °C (40 циклов). Все лабораторные работы проводили в соответствии с протоколами производителей наборов для молекулярных исследований. Последовательность специфических праймеров, используемых в исследовании, представлена в таблице 1.

4. Статистическая обработка

Весь цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с использованием таблиц Стьюдента. В таблицах представлены средние (M) и стандартные ошибки средних (±SEM).

Таблица 1 – Нуклеотидная последовательность праймеров

Ген	Праймеры
ACTB (β-актин)	F: ATGGATGATGATATTGCTGC R: TTTGCTCTGGGCTTCATC
PRSS2 (сериновая протеаза 2)	F: AGTGCCGACATTCAACCC R: CATTGCTCAGCGTGTTC
PRSS3 (сериновая протеаза 3)	F: TCTCTGGATGGGGCAACAC R: ACTGCTGCACTGGCTTGAG

РЕЗУЛЬТАТЫ/RESULTS

При использовании в рационе кур сбалансированного корма были получены результаты, не имеющие существенных различий по активности трипсина в постпрандиальный период (табл.2).

Результаты исследований показали, что наблюдается тенденция к увеличению

активности трипсина во второй порции дуоденального химуса на 5,3%, что соответствует периоду поступления содержимого желудка в кишечник и регуляция секреторной функции поджелудочной железы нейрогуморальным механизмом, который ориентируется преимущественно на белковый компонент рациона птицы.

При этом уровень щелочной фосфатазы снижается на 22,2% ($p<0.05$). Количество кальция и фосфора в кишечнике в постпрандиальный период не изменяется и находится в соотношении 5:1, 4:1, что существенно отличается от оптимального соотношения в крови и обусловлено, видимо, быстрым всасыванием в кровь фосфора. Данные по крови представлены в табл.3.

Данные таблицы показали, что куры обладают высокой трипсиновой активностью в сыворотке крови [11], которая в 7,5 раз ниже, чем в дуоденальном содержимом. Между этими показателями обнаружена связь, которая позволяет определить уровень метаболизма в организме курицы [12] и отличает их от других животных. В этом случае наблюдается высокий уровень кальция в крови, что может быть связано с его ингибирующим действием по отношению к протеазам крови [13]. Белковый и липидный обмены имеют

связи в организме, поэтому высокий уровень белкового обмена коррелирует с биомаркерами липидного обмена холестерина и триглицеридами в крови. Для того, чтобы понять взаимодействие трипсина в кишечнике и крови, были выполнены исследования по изучению экспрессии генов трипсина в дуоденальном химусе, полученном от фистульных птиц, и в крови этих кур.

Результаты молекулярно-генетических исследований в определенной степени подтвердили данные биохимического анализа и свидетельствовали о более интенсивной экспрессии генов, кодирующих трипсиновые протеазы, в полости двенадцатиперстной кишки по сравнению с кровью. Экспрессия гена PRSS3 была обнаружена как в крови, так и в дуоденальном содержимом, причем у каждой из подопытных особей активность этого гена в крови была выше, чем в полости кишечника.

Таблица 2 – Активность ферментов и минерального состава дуоденального химуса кур в постпрандиальную фазу

Показатель	Период после кормления	
	через 60 минут	через 120 минут
Активность трипсина, ед/л	2249±118,6	2368±122,1
Активность щелочной фосфатазы, ед/л	5389±379,3	4193±252,3*
Кальций, ммоль/л	50±4,9	41±3,5
Фосфор, ммоль/л	10±0,7	10±0,7

Примечание: * статистически значимые различия между периодами, при $p<0,05$.

Таблица 3 – Биохимические показатели крови кур при использовании в рационе комбикорма ПК-1 ($M\pm m$, $n=30$)

Показатель	Результаты анализов
Трипсин, ед/л	298±59,9
Амилаза, ед/л	522±43,8
Глюкоза, ммоль/л	11,4±0,20
Щелочная фосфатаза, ед/л	483±139,0
Мочевая кислота, ммоль/л	117±35,3
Общий белок, г/л	64±18,6
Холестерин, ммоль/л	7±0,07
Триглицериды, ммоль/л	4±0,1
Кальций, ммоль/л	6,8±0,50
Фосфор, ммоль/л	2,1±0,70

Таблица 4 – Экспрессия генов, связанных с синтезом трипсина, в крови и дуоденальном содержимом кур ($M \pm m$, $n=5$)

Показатель	Ген				
	<i>ACTB</i>	<i>PRSS2</i>		<i>PRSS3</i>	
	Ct <i>ACTB</i>	Ct <i>PRSS2</i>	Δ Ct	Ct <i>PRSS3</i>	Δ Ct
Кровь	30,1 $\pm$ 0,31	-	-	36,0 $\pm$ 0,10	5,9 $\pm$ 0,80
Дуоденальное содержимое	29,5 $\pm$ 0,52	30,2 $\pm$ 0,34	0,4 $\pm$ 0,04	34,4 $\pm$ 0,37	4,9 $\pm$ 0,51

Примечание: Ct – пороговое значение флуоресценции при амплификации соответствующего гена, Δ Ct – разница пороговых значений флуоресценции при амплификации исследуемого и референсного гена.

Результаты исследований еще раз подтвердили наличие активного трипсина не только в дуоденальном содержимом, но и в сыворотке крови кур.

ВЫВОДЫ/ CONCLUSIONS

При использовании сбалансированного рациона (ПК-1) активность трипсина в дуоденальном химусе у кур, полученном от фистульных птиц, составляет через 60 минут после кормления 2249 $\pm$ 118,6 ед/л, через 120 минут - 2368 $\pm$ 122,1 ед/л.

2. Активность трипсина в сыворотке крови кур составляет 298 $\pm$ 59,9 ед/л, что значительно превосходит показатели млекопитающих животных.

3. Результаты молекулярно-генетических исследований установлена высокая транскрипционная активность генов *PRSS2* и *PRSS3* в содержимом двенадцатиперстного кишечника, *PRSS3* – в крови цыплят-бройлеров.

EVALUATION OF TRYPSIN IN DUODENAL CONTENTS AND CHICKEN CRO- VIE BY BIOCHEMICAL AND MOLECULAR GENETIC METHODS

Polina S.I. – postgraduate student, assistant of the Department of Physiology, Ethology and Biochemistry of Animals (ORCID 0009-0002-7016-8944); **Vertiprakhov V.G.** – Dr. of Biological Sciences, Head of the Department of Physiology, Ethology and Biochemistry of Animals (ORCID 0000-0002-3240-7636); **Karamushkina S.V.** – Ph. Department of Physiology, Ethology and Biochemistry of Animals (ORCID 0009-0009-6485-7146); **Lopatina V.V.** – Ph. -

Postgraduate student, assistant of the Department of Physiology, Ethology and Biochemistry of Animals (ORCID 0009-0000-2562-9137); **Zagarin A.Yu.** – Postgraduate student, assistant of the Department of Animal Breeding, Genetics and Biotechnology, (ORCID 0000-0002-3782-3903).

Russian State Agrarian University-Moscow Timiryazev Agricultural Academy

*polina_sveta.93@bk.ru

ABSTRACT

The study is devoted to the assessment of trypsin activity in the duodenal contents and blood of Hisex White laying hens using biochemical and molecular genetic methods. The aim of the work is to study the enzymatic activity of trypsin and the expression of its genes (*PRSS2*, *PRSS3*) depending on the composition of the diet. The experiments were carried out on hens with chronic duodenal fistula, whose diet complied with the standards of VNITIP (17.7% crude protein, 282 kcal/100 g). All studies on poultry were carried out in accordance with the requirements of humane treatment of animals (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123) [Russian, English] (Strasbourg 18.03.1986). Trypsin activity in duodenal chyme 60 and 120 minutes after feeding was 2249 $\pm$ 118.6 and 2368 $\pm$ 122.1 U/L, respectively, indicating adaptation of the pancreas to the protein component of the feed. In blood serum, trypsin activity reached 298 $\pm$ 59.9 U/L, which is

7.5 times lower than in the intestine, but indicates a high level of metabolism. Molecular genetic analysis confirmed the expression of the PRSS2 and PRSS3 genes in the duodenal contents and PRSS3 in the blood, with the activity PRSS3 in the blood was higher than in the intestine. A correlation was established between trypsin activity in biological fluids and metabolic processes, including protein and lipid metabolism. The results emphasize the role of trypsin as a marker of metabolism and its regulatory functions, which is important for optimizing diets and assessing the selection indicators of poultry.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.Коротко Г.Ф. Формирование ферментного компонента секретов пищеварительных желез (обзор) // Физическая культура, спорт - наука и практика. 2013, 1. С. 51-57.
- 2.Rothman, S. S. Nonparallel transport of enzyme protein by the pancreas / S. S. Rothman // Nature Lond. - 2017. -Vol. 213. - P. 460-462.
- 3.Можейко Л.А. Морфофизиологическое обоснование непараллельной экзокринной секреции ферментов поджелудочной железы // Новости медико-биологических наук, 2017, 15(1). С. 72-76.
- 4.Williams DA. Introduction: exocrine pancreatic insufficiency and pancreatitis // Top Companion Anim Med. 2012.27(3). P.95. doi: 10.1053/j.tcam.2012.05.003. Epub 2012 Sep 5. PMID: 23148847.
- 5.Ballegaard A.-S.R. and Bøgh K.L. Intestinal protein uptake and IgE-mediated food allergy// Food Research International. 2023.163. 112150
- 6.Pavan R, Jain S, Shraddha, Kumar A. Properties and therapeutic application of bromelain: a review // Biotechnol Res Int. 2012:976203. doi: 10.1155/2012/976203. Epub 2012 Dec 10. PMID: 23304525; PMCID: PMC3529416.
- 7.Miyauchia S., Kajiwarab S., Satoa K. Metabolic fate of peptides in a rice protein hydrolysate in rat intestine and blood after oral administration //Journal of Food Bioactives. 2022.Vol 20. P. 40-55. DOI: 10.31665/JFB.2022.18327
- 8.Luo W., Wang Y., Reiser G. (2007). Protease-activated receptors in the brain: Receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection // Brain Res. Rev. 56 (2). P. 331–345. doi:10.1016/j.brainresrev.2007.08.002
- 9.Вертипрахов В. Г. Физиология кишечного пищеварения у кур (экспериментальный подход). Москва: Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. 175 с. ISBN: 978-5-9675-1887-4. EDN: VCFFIY.
- 10.Вертипрахов В. Г., Грозина А. А. Оценка состояния поджелудочной железы методом определения активности трипсина в крови птицы // Ветеринария. 2018. № 6. С. 51–54. DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.12.51-54.
- 11.Вертипрахов В. Г., Селионова М. И., Малородов В. В. Трипсин – новый маркер метаболизма у животных // Тимирязевский биологический журнал. 2023. № 1. С. 53–58. DOI: 10.26897/2949-4710-2023-1-53-58. EDN: SHJLSJ.
- 12.Вертипрахов В. Г., Грозина А. А., Фисинин В. И., Егоров И. А. Корреляция между активностью пищеварительных ферментов в поджелудочной железе и сыворотке крови у цыплят // Open Journal of Animal Sciences. 2018. Vol. 8, No. 3. P. 215–222. DOI: 10.4236/ojas.2018.83016.
- 13.Вертипрахов В. Г., Грозина А. А., Фисинин В. И. и др. Кальций как ингибитор активности трипсина в панкреатическом соке кур // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2021. Т. 51, № 2. С. 80–86. DOI: 10.26898/0370-8799-2021-2-10. EDN: GONNDL.

REFERENCES

1. Korotko G.F. Formation of the enzyme component of digestive gland secretions (review) // Physical culture, sport - science and practice. 2013, 1. С. 51-57.
2. Rothman, S. S. Nonparallel transport of enzyme protein by the pancreas / S. S. Rothman // Nature Lond. - 2017. -Vol. 213. - P. 460-462.
3. Mozheiko L.A. Morphophysiological substantiation of nonparallel exocrine secretion

- of pancreatic enzymes // *Novosti medicobiologicheskikh nauk*, 2017, 15(1). С. 72-76.
4. Williams DA. Introduction: exocrine pancreatic insufficiency and pancreatitis // *Top Companion Anim Med*. 2012.27(3). P.95. doi: 10.1053/j.tcam.2012.05.003. Epub 2012 Sep 5. PMID: 23148847.
5. Ballegaard A.-S.R. and Bøgh K.L. Intestinal protein uptake and IgE-mediated food allergy// *Food Research International*. 2023.163. 112150
6. Pavan R, Jain S, Shraddha, Kumar A. Properties and therapeutic application of bromelain: a review // *Biotechnol Res Int*. 2012:976203. doi: 10.1155/2012/976203. Epub 2012 Dec 10. PMID: 23304525; PMCID: PMC3529416.
7. Miyauchia S., Kajiwarab S., Satoa K. Metabolic fate of peptides in a rice protein hydrolysate in rat intestine and blood after oral administration // *Journal of Food Bioactives*. 2022.Vol 20. P. 40-55. DOI: 10.31665/JFB.2022.18327
8. Luo W., Wang Y., Reiser G. (2007). Protease-activated receptors in the brain: Receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection // *Brain Res. Rev*. 56 (2). P. 331–345. doi:10.1016/j.brainresrev.2007.08.002
9. Vertiprakhov V.G. Physiology of intestinal digestion in chickens (experimental approach). Moscow: Russian State Agrarian University - K.A. Timiryazev MSHA, 2022. 175 с. ISBN: 978-5-9675-1887-4. EDN: VCFFIY.
10. Vertiprakhov V. G., Grozina A. A. Assessment of the state of the pancreas by determining trypsin activity in poultry blood // *Veterinary Science*. 2018. № 6. С. 51-54. DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.12.51-54.
11. Vertiprakhov V. G., Selionova M. I., Malorodov V. V. Trypsin - a new marker of metabolism in animals // *Timiryazevsky Biological Journal*. 2023. № 1. С. 53-58. DOI: 10.26897/2949-4710-2023-1-53-58. EDN: SHJLSJ.
12. Vertiprakhov V. G., Grozina A. A., Fisinin V. I., Egorov I. A. Correlation between the activity of digestive enzymes in the pancreas and blood serum in chickens // *Open Journal of Animal Sciences*. 2018. Vol. 8, No. 3. P. 215-222. DOI: 10.4236/ojas.2018.83016.
13. Vertiprakhov V. G., Grozina A. A., Fisinin V. I. et al. Calcium as an inhibitor of trypsin activity in the pancreatic juice of chickens // *Sibirskiy vestnik agrarnogo nauki*. 2021. T. 51, № 2. С. 80-86. DOI: 10.26898/0370-8799-2021-2-10. EDN: GONNDL.

УДК: 619:591.4:636.59

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.282

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДЛИНЫ ТЕЛА И ПАРАМЕТРОВ ПИЩЕВОДА У ПЕРЕПЕЛОВ ПОРОДЫ ФАРАОН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Саенко Н.В. * – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. анатомии и физиологии животных (ORCID 0000-0002-6495-2700).

Институт «Агротехнологическая академия», ФГАОУ ВО
«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»

* nvsenko@list.ru

Ключевые слова: перепела, порода фараон, пробиотик «Ветом 1.2», «Чиктоник», длина тела, пищевод, динамика.

Key words: quail, Pharaoh breed, probiotic "Vetom 1.2", "Chiktonik", body length, esophagus, dynamics.

Поступила: 17.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

При выращивании птиц вместо антибиотиков наращиваются обороты применения биологически активных препаратов, которые способствуют повышению резистентности организма птиц, их сохранности и увеличивают темпы роста и развития молодняка. Цель исследований: выявить влияние пробиотического препарата «Ветом 1.2» и поливитаминного комплекса «Чиктоник» на интенсивность роста перепелов породы фараон и их сохранность, возрастную динамику развития пищевода. Эксперимент длился 50 дней, в ходе которого первая группа птиц получала основной рацион (контрольная), опытные группы в дополнение к основному рациону добавки биологически активных веществ: вторая - пробиотик «Ветом 1.2», третья – сочетание пробиотика «Ветом 1.2» и поливитаминного комплекса «Чиктоник». Линейные параметры тела перепелов варьировали на протяжении эксперимента у всех групп, но наиболее стабильные показатели регистрировали у перепелов, получавших в качестве добавки к основному рациону пробиотик «Ветом 1.2» в сочетании с препаратом «Чиктоник», в то время как у особей из двух других групп отмечали скачкообразные изменения интенсивности роста. В каждую декаду эксперимента регистрировали превалирование морфометрических параметров пищевода у птиц опытных групп в сравнении с контрольной, что свидетельствует о положительном влиянии применяемых добавок на развитие пищеварительной системы у птиц, особенно второй опытной группы. Сохранность перепелов за первую неделю жизни составила 84,00%. Причем наибольшую сохранность птицы регистрировали также у второй опытной группы, получавшей в качестве добавки к основному рациону пробиотик в сочетании с поливитаминным комплексом.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Особое место среди большого видового разнообразия птицеводческой продукции отводится перепеловодству. На сегодняшний день его считают одним из наиболее перспективных направлений в птицеводстве. Промышленное разведение перепелов позволяет получать высококачественные продукты питания, такие как мясо и яйцо, которые занимают особое положение в потребительской корзине населения страны в виду своих диетических качеств [1,2].

В последние десятилетия с целью повышения сохранности птицы и поддержания высокого качества получаемой продукции при выращивании перепелов увеличивают применение различных биологически активных добавок, таких как пробиотики, пребиотики, витамины, минеральные вещества и др., которые способствуют повышению резистентности организма птиц, сохранению их здоровья и увеличивают темпы роста и развития молодняка [3-9].

Несмотря на то, что в научной литературе много сведений о роли пробиотиков в птицеводстве, проведено большое количество исследований о их влиянии на организм птиц, большинство из них все-таки посвящены бройлерным курам. Что касается влияния биологически активных веществ на организм перепелов, данных относительно мало, так как отрасль довольно молодая [3-9].

Поэтому цель данных исследований – определить влияние пробиотического препарата «Ветом 1.2» и поливитаминного комплекса «Чиктоник» на интенсивность роста перепелов породы фараон, возрастные изменения параметров пищевода, сохранность птицы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Научные изыскания осуществлялись на кафедре анатомии и физиологии животных факультета ветеринарной медицины Института «Агротехнологическая академия» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Объектом для исследований служили перепела мясной породы фараон

возрастом от 1 до 50 суток. Всего в эксперименте было задействовано 75 голов птицы.

Перепелов в возрасте одни сутки для проведения эксперимента разделили на три группы, создав каждой аналогичные условия содержания и кормления. При этом одна группа была контрольной (n=25), птицы двух других получали в качестве добавки к основному рациону биологически активные вещества, такие как пробиотик «Ветом 1.2», состоящий из сухой бактериальной массы штаммов микроорганизмов *Bacillus subtilis* ВКПМ В-10641, *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-10642 и В-10643 и витаминно-аминокислотный комплекс «Чиктоник». Первой опытной группе (n=25) ввели в рацион только пробиотик, а второй (n=25) сочетание пробиотика и поливитаминного комплекса.

После деления на группы перепела содержались отдельно. В период эксперимента проводили ежедневный осмотр перепелов с целью регистрации сохранности поголовья. Для оценки динамики роста перепелов определяли линейные размеры тела птицы, которые выполняли с помощью линейки и штангенциркуля с точностью до 0,01 мм. При этом измеряли длину туловища от затылка до хвоста и от клюва до хвоста.

Убой птицы проводили в 1-, 10-, 20-, 30-, 40-, 50-суточном возрасте методом острого обескровливания. Затем выполняли анатомическое препарирование птиц и помещали в 10% раствор формалина для фиксации.

Материалом для исследований послужили такие участки передней кишки перепелов, как пищевод и зоб. Исследовали морфометрические показатели (определение длины, ширины и массы); макро- и микроскопические изменения пищевода и зоба птиц в опыте. Показатели длины и ширины измеряли с помощью штангенциркуля с точностью до 0,01 мм. Определение показателей массы отдельных органов проводили, используя настольные лабораторные электронные весы «ТВЕ» с точностью до 0,01 г.

Для анализа данных, выявления закономерностей использовали методы вариационной статистики, применяя программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Возрастные изменения морфологических показателей тела у перепелов мясной породы фараон являются результатом сложного взаимодействия генетических и экологических факторов, а в случае данных научных изысканий еще и влияния пробиотика и поливитаминного комплекса.

Исследования этологических особенностей и клинического статуса перепелов породы фараон при применении таких биологически активных добавок к основному рациону, как пробиотический препарат «Ветом 1.2» и поливитаминный комплекс «Чиктоник» на протяжении всего эксперимента не выявили наруше-

ний в поведении или внешнем виде (экстерьер, двигательная активность и перьевой покров). Птицы проявляют все характерные показатели, присущие матурированным или выводковым видам.

Перед началом опыта определяли морфологические показатели тела у суточных птиц для получения наиболее точной информации о влиянии препаратов на показатели роста и развития перепелов породы фараон.

При оценке динамики линейных размеров тела перепелов в эксперименте установили, что длина тела контрольной группы перепелов в 10 суток была от клюва до хвоста $9,70 \pm 0,30$ см, от затылка до хвоста - $8,10 \pm 0,40$ см, что на 5,15% и 8,64% меньше, чем в первой опытной группе соответственно и всего на 1,03% и на 4,93%, чем во второй (табл. 1).

Таблица 1 – Динамика показателей длины тела перепелов породы фараон в эксперименте

Группа перепелов	Возраст, сут	Длина тела, см	
		от клюва до хвоста	от затылка до хвоста
Все группы	1	$6,70 \pm 0,30$	$5,80 \pm 0,30$
Контрольная	10	$9,70 \pm 0,30$	$8,10 \pm 0,40$
1 опытная		$10,20 \pm 0,40$	$8,80 \pm 0,40$
2 опытная		$9,80 \pm 0,20$	$8,50 \pm 0,30$
Контрольная	20	$14,30 \pm 1,20$	$12,50 \pm 1,00$
1 опытная		$13,30 \pm 1,00$	$11,50 \pm 1,00$
2 опытная		$14,70 \pm 0,80$	$12,40 \pm 0,40$
Контрольная	30	$17,30 \pm 1,50$	$15,70 \pm 0,60$
1 опытная		$18,20 \pm 0,30$	$16,70 \pm 0,30$
2 опытная		$18,30 \pm 0,30$	$16,30 \pm 0,30$
Контрольная	40	$21,20 \pm 0,80$	$17,40 \pm 0,80$
1 опытная		$22,30 \pm 1,30$	$18,30 \pm 1,00$
2 опытная		$20,50 \pm 1,50$	$17,30 \pm 0,30$
Контрольная	50	$22,20 \pm 1,00$	$18,20 \pm 0,60$
1 опытная		$22,80 \pm 0,80$	$19,30 \pm 1,30$
2 опытная		$23,50 \pm 1,00$	$19,00 \pm 1,00$

Примечание: $*p \leq 0,05$.

Таблица 2 – Морфометрические параметры пищевода у перепелов в эксперименте

Группа перепелов	Возраст, сут	Длина, см	Масса, г
Все группы	1	1,80±0,05	0,03±0,01
Контрольная	10	3,37±0,40	0,77±0,11
1 опытная		3,32±0,30	0,75±0,09
2 опытная		3,20±0,30	0,71±0,10
Контрольная	20	4,63±0,40	1,24±0,24
1 опытная		4,77±0,30	1,30±0,20
2 опытная		5,17±0,20	1,52±0,08
Контрольная	30	5,90±0,30	1,74±0,08
1 опытная		6,17±0,60	1,85±0,10
2 опытная		6,06±0,06	1,80±0,05
Контрольная	40	6,33±0,50	2,24±0,30
1 опытная		6,97±0,50	2,72±0,40
2 опытная		6,90±0,11	2,72±0,10
Контрольная	50	8,00±0,30	2,61±0,30
1 опытная		8,40 ±0,3	2,78 ±0,25
2 опытная		9,12±0,80	3,11±0,15

Примечание: * $p \leq 0,05$.

Показатели длины у перепелов контрольной группы в возрасте 20 суток составляли 14,30±1,20 см от клюва до хвоста и 12,50±1,00 см от затылка до хвоста. Птицы первой опытной группы к этому возрасту имели промеры меньше, также, как и живую массу. У птиц второй опытной группы по сравнению с контрольной длина от клюва до хвоста выше всего на 2,80%, а длина от затылка до хвоста также немного ниже - на 0,80%. В 30-ти суточном возрасте отмечали более интенсивное увеличение размеров перепелов опытных групп. В контрольной группе параметры варьировали в пределах 17,30±1,50 см (от клюва до хвоста) и 15,70±0,60 см (от затылка до хвоста). В первой опытной показатели были выше на 5,20% и 6,37%, во второй опытной – на 6,40% и 3,82% соответственно.

К 40 суткам у перепелов контрольной группы длина тела от клюва до хвоста составила 21,20±0,80 см, от затылка до хвоста - 17,40±0,80 см. Что касается опытных групп, то у перепелов, получавших только пробиотик, линейные показатели были незначительно больше. Тогда

как у птиц, получавших сочетание пробиотика и витаминно-аминокислотного комплекса, наоборот, несколько меньше.

Измерение параметров тела птиц к концу опыта показало тенденцию к их увеличению у перепелов опытных групп по сравнению с контрольной. Так в 50 суток показатели длины от клюва до хвоста первой опытной группы превышали таковые группы контроля на 2,70%, а второй опытной - на 5,80%, а показатели длины от затылка до хвоста на 6,00% и 4,40% соответственно. Живая масса и параметры длины тела у перепелов первой опытной группы, получавшей в качестве добавки только пробиотик, к концу эксперимента были больше, чем у птиц контрольной группы и второй опытной.

Пищевод перепела представляет собой трубкообразной формы орган, следующий после глотки, в котором различают следующие отделы: шейный, зоб и грудной. Морфометрические показатели (масса и длина) пищевода у перепелов контрольной и опытных групп представлены в таблице 2.

Таблица 3 – Показатели сохранности перепелов породы фараон

Группа перепелов	Кол-во голов в группе	Кол-во павших	% падежа	% сохранности
Контрольная	25	4	16,00	84,00
1 опытная	25	5	20,00	80,00
2 опытная	25	3	12,00	88,00
По всем группам	75	12	16,00	84,00

В возрасте 10-ти суток длина пищевода перепелов опытных групп незначительно уступала таковой пищевода группы контроля: между первой на 1,50% и второй на 5,10%. Показатели массы пищевода у группы контроля выше, чем у первой (2,60%) и второй (7,80%) опытных групп.

В 20-ти суточном возрасте интенсивность роста пищевода у опытных групп возросла и стала превышать показатели контрольной группы. Так, длина пищевода стала больше у первой на 3,00% и у второй - на 11,70%, а масса – первой и второй групп на 4,80% и 22,60% соответственно.

На 30-е сутки эксперимента у перепелов опытных групп также наблюдалось увеличение интенсивности роста пищевода по сравнению с группой контроля. Так, длина пищевода у птиц, получавших пробиотик, оказалась на 4,58% больше, а масса – на 6,32% выше по сравнению с контролем. У группы птиц, получавших сочетание пробиотика и поливитаминного комплекса, на 2,71% и 3,45% соответственно.

Морфометрические показатели пищевода перепелов в 40-суточном возрасте также превалировали у опытных групп. Так, длина была больше у первой на 10,10%, второй - на 21,40%, а масса - на 21,40% и 9,00% соответственно по сравнению с контрольной группой.

К 50-ти суточному возрасту такая тенденция сохранилась, но разница уже была не такой значительной, а именно длина пищевода опытных групп превышала показатели группы контроля на 4,80% и на 13,70%, а масса – на 6,50% и на 18,70% соответственно.

При проведении эксперимента был

определен такой немаловажный показатель в птицеводстве, как сохранность поголовья. Сохранность поголовья для этого вида в 80% считается очень высоким показателем (табл. 3).

Падеж среди молодняка регистрировали только в первую неделю их жизни. Он составил 16,00%, из них в контрольной группе пало 5,33%, в первой опытной группе – 6,67%, во второй опытной – 4,00%. Наибольший показатель сохранности регистрировали во второй опытной группе, где он составил 88,00%. Сохранность всего поголовья за первую неделю жизни составила 84,00%, а процент падежа – 16,00%. Эти показатели являются естественными и соответствуют норме при выращивании перепелов.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенного исследования установлено, что включение в рацион перепелов пробиотика «Ветом 1.2» и поливитаминного комплекса «Чиктоник» оказывает положительное влияние на морфометрические показатели роста как тела, так и пищевода. Данная динамика наблюдалась в каждую декаду эксперимента, что свидетельствует о стимулирующем действии применяемых добавок на развитие пищеварительной системы у птиц, особенно второй опытной группы. Улучшение морфометрических показателей пищевода, как и линейных промеров тела может быть связано с оптимизацией процессов пищеварения и усвоения питательных веществ корма под действием комплексного применения добавок. Сохранность перепелов за первую неделю жизни составила 84,00%. Причем наибольшую сохранность птицы регистрировали также у второй опытной группы, получавшей в качестве добавки к

основному рациону пробиотик в сочетании с поливитаминным комплексом. Однако для уточнения механизмов воздействия биологически активных веществ и их долгосрочных эффектов необходимы дальнейшие исследования.

AGE-RELATED CHANGES IN BODY LENGTH AND ESOPHAGUS PARAMETERS IN PHARAOH BREED QUAIL IN AN EXPERIMENT

Saenko N.V. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Animal Anatomy and Physiology (ORCID 0000-0002-6495-2700).

V.I. Vernadsky Crimean Federal University

* nvsaenko@list.ru

ABSTRACT

When growing birds, instead of antibiotics, the use of biologically active drugs is increasing, which help to increase the resistance of the bird's body, their safety and increase the growth and development rates of young animals. The purpose of the research: to find out the effect of the probiotic drug "Vetom 1.2" and the multivitamin complex "Chiktonik" on the growth rate of quails of the Pharaoh breed and their safety, age dynamics of esophagus development. The experiment lasted 50 days, during which the first group of birds received the main diet (control), the experimental groups in addition to the main diet supplements of biologically active substances: the second - probiotic "Vetom 1.2", the third - a combination of probiotic "Vetom 1.2" and multivitamin complex "Chiktonik". The linear parameters of the quail body varied throughout the experiment in all groups, but the most stable indicators were recorded in quails that received the probiotic "Vetom 1.2" as a supplement to the main diet in combination with the vitamin-amino acid preparation "Chiktonik", while in individuals from the other two groups, abrupt changes in the growth rate were noted. In each decade of the experiment, the prevalence of morphometric parameters of the esophagus in birds

of the experimental groups was recorded compared to the control, which indicates a positive effect of the additives on the development of the digestive system in birds, especially in the second experimental group. The survival rate of quails during the first week of life was 84.00%. Moreover, the highest survival rate of birds was also recorded in the second experimental group, which received the probiotic in combination with the multivitamin complex as a supplement to the main diet.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бидеев, Б. А. Продуктивность и биологические особенности перепелов разных пород: дис. на соиск. учен. степ. канд. вет. наук; Горский гос. аграрный университет. - Владикавказ, 2016. - 120 с. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30446287>
2. Кочетова, З. И., Белякова, Л.С. Перепеловодство – выращивание и содержание / З.И. Кочетова, Л.С. Белякова. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 2010. – 83 с. Режим доступа: <https://elibrary.ru/swdklf>
3. Кошцаева, О. В., Фисенко, Г.В., Хатхакумов, С.С. Влияние пробиотиков на сохранность, рост, развитие и продуктивность перепелов / О.В. Кошцаева, Г.В. Фисенко, С.С. Хатхакумов // Молодой ученый. - 2015. - № 8. - С. 394-397. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23295595>
4. Лемещенко, В.В. Динамика морфометрии кишечника перепелов в постнатальном онтогенезе / В.В. Лемещенко, Т.С. Неделько // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. - №28 (191). – 2021. – С. 118 - 124. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48116562>
5. Лысенко, Ю. А. Влияние пробиотиков на мясную и яичную продуктивность перепелов / Ю.А. Лысенко // Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2012. - № 5 (38). - С. 145-148. Режим доступа: <https://elibrary.ru/pgoqyt>
6. Ноздрин, Г. А. Научные основы применения пробиотиков в птицеводстве / Ноздрин Г. А., Иванова А. Б., Шевченко А. И., Ноздрин А. Г.: сб. мат. Новосиб. гос. аграр. ун-т. Новосибирск, 2005. - 188

с. URL: <https://e.lanbook.com/book/44521>

7. Петенко, А. И. Перспективы использования пробиотиков на основе молочнокислых и пропионовокислых микроорганизмов в перепеловодстве / А.И. Петенко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2013. - № 43. - С. 66-71. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=20640619>

8. Саенко, Н.В. Клинические изменения и интенсивность роста перепелов при применении пробиотика «Споровит» и янтарной кислоты / Н.В. Саенко // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. - 2019. - №19 (182). - С. 164-170. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=37712406>

9. Saenko, N., Lemeshchenko, V., Sokolov, V., Nekhaychuk, E. and Saenko, J. Structural features of the ovaries of Texas quail in the experiment Published online: 04 December 2020 // Innovative Technologies in Science and Education (ITSE-2020) / E3S Web of Conferences 210, 06019 (2020). DOI: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202021006019> <https://elibrary.ru/item.asp?id=45084549>

REFERENCES

1. Bideev, B. A. Productivity and biological characteristics of quails of different breeds: dis. for the dis. of the scientific degree of candidate of veterinary sciences; Gorsky State Agrarian University. - Vladikavkaz, 2016:120. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30446287>

2. Kochetova, Z. I., Belyakova, L. S. Quail breeding - growing and maintenance / Z. I. Kochetova, L. S. Belyakova. - Sergiev Posad: VNITIP, 2010:83. URL: <https://elibrary.ru/swdklf>

3. Koshchaeva, O. V., Fisenko, G. V., Khatkhakumov, S. S. The influence of probiotics on the safety, growth, development and

productivity of quails / O. V. Koshchaeva, G.V. Fisenko, S.S. Khatkhakumov // Young scientist. - 2015;8:394-397. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23295595>

4. Lemeshchenko, V.V. Dynamics of quail intestine morphometry in postnatal ontogenesis / V.V. Lemeshchenko, T.S. Nedeljuk // News of agricultural science of Tavrida, 2021;28(191):118-124. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48116562>

5. Lysenko, Yu. A. Effect of probiotics on meat and egg productivity of quails / Yu.A. Lysenko // Proceedings of the Kuban State Agrarian University, 2012;5(38):145-148. URL: <https://elibrary.ru/pgoyt>

6. Nozdryn, G. A. Scientific basis for the use of probiotics in poultry farming / Nozdryn G. A., Ivanova A. B., Shevchenko A. I., Nozdryn A. G.: collection of materials. Novosibirsk state agrarian university, Novosibirsk, 2005:188. URL: <https://e.lanbook.com/book/44521>

7. Petenko, A. I. Prospects for the use of probiotics based on lactic acid and propionic acid microorganisms in quail farming / A. I. Petenko // Proceedings of the Kuban State Agrarian University, 2013;43:66-71. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=20640619>

8. Saenko, N.V. Clinical changes and growth intensity of quails when using the probiotic "Sporovit" and succinic acid / N.V. Saenko // News of agricultural science of Tavrida, 2019;19(182):164-170. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=37712406>

9. Saenko, N., Lemeshchenko, V., Sokolov, V., Nekhaychuk, E. and Saenko, J. Structural features of the ovaries of Texas quail in the experiment Published online: 04 December 2020 // Innovative Technologies in Science and Education (ITSE-2020) / E3S Web of Conferences 210, 06019 (2020). DOI: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202021006019> URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=45084549>

УДК: 619:615.9:616.36:611.018:576.31
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.289

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ СТИМУЛЯЦИЯ ПРОТЕКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АФЛАТОКСИКОЗА

Стрельцова Я.Б. – канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. морфологических исследований (ORCID 0000-0002-5898-9152); **Юсупова К.В.*** – канд. ветеринар. наук, науч. сотр. лаб. морфологических исследований (ORCID 0000-0001-8597-3458); **Хафизова А.М.** – мл. науч. сотр. лаб. морфологических исследований (ORCID 0009-0008-2380-0701); **Кашеваров Г.С.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. морфологических исследований (ORCID 0000-0002-4520-7596); **Матросова Л.Е.** – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. микотоксинов (ORCID 0000-0001-7428-7882); **Танасева С.А.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. микотоксинов (ORCID 0000-0003-1295-6184); **Домбровский В.О.** – асп. (ORCID 0000-0002-8960-0971)

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности»

* kse.perf@gmail.com

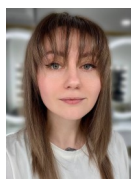
Ключевые слова: профилактика, микотоксины, афлатоксин B₁, гепатопротекция, гистологические изменения, ультраструктурная патология.

Keywords: prevention, mycotoxins, aflatoxin B₁, hepatoprotection, histological changes, ultrastructural pathology.

Поступила: 18.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Микотоксикозы продолжают оставаться насущной проблемой в аграрном секторе, поскольку микотоксины широко распространены в качестве контаминантов кормов и пищевой продукции. Плесневый гриб рода *Aspergillus* выделяет несколько типов афлатоксинов (B₁, B₂, G₁ и G₂), из которых афлатоксин B₁ входит в группу особо опасных. Афлатоксин B₁ проявляет тропизм к гепатоцитам, дестабилизируя процессы метаболизма и детоксикации в органе, а развитие патологических изменений на макро- и микроскопическом уровне нарушает основные функции печени, что в свою очередь индуцирует полиоргannую недостаточность. Цель настоящей работы – изучение влияния разработанного на базе ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» профилактического средства «Гепатопротект» на сохранение морфологии гепатоцитов крыс в условиях экспериментального афлатоксикоза. Объектом исследования служили белые крысы, которые были разделены на 3 группы (по 6 голов в каждой) по принципу аналогов с учетом массы, пола и возраста. Первая группа служила биологическим контролем эксперимента. Вторая – токсическим контролем, получавшим афлатоксин B₁ с кормом. Третьей группе одновременно давали корм, контаминированный афлатоксином B₁, и комбовую добавку «Гепатопротект». После эвтаназии были отобраны пробы печени, которые исследовали на гистологическом и ультраструктурном

уровне. Результаты гистологического исследования продемонстрировали положительное влияние кормовой добавки «Гепатопротект» на сохранение гистоархитектоники печени крыс в условиях экспериментального афлатоксикоза. На основании данных ультраструктурного исследования и их статистической обработки также был подтвержден протективный эффект кормовой добавки «Гепатопротект» в отношении митохондрий гепатоцитов белых крыс. Разработанное средство профилактики микотоксикозов способствует поддержанию процессов клеточного дыхания, снижая риск гипоксии, приводящей к массовой гибели гепатоцитов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Пищевые микотоксикозы, индуцированные афлатоксинами, представляют серьезную опасность для агропромышленного комплекса, так как микотоксины являются распространенным контаминантом кормов и пищевой продукции [1 – 4]. На рост плесневых грибов рода *Aspergillus*, продуцентов афлатоксинов, влияет ряд факторов, в число которых входят влажность и температура окружающей среды, а также нарушение условий производства и хранения продуктов питания растительного и животного происхождения.

Среди афлатоксинов выделяют: афлатоксин В₁, афлатоксин В₂, афлатоксин G₁ и афлатоксин G₂. Наибольшим канцерогенным и летальным потенциалом обладает афлатоксин В₁ [5], инициируя в организме развитие опухолей, в частности карцином, а также патологии органов репродуктивной и центральной нервной систем.

Афлатоксины проявляют тропизм к гепатоцитам, дестабилизируя процессы метаболизма и детоксикации в органе, а развитие патологических изменений на макро- и микроскопическом уровне нарушают основные функции печени, что в свою очередь индуцирует полиорганную недостаточность [6, 7].

Несмотря на наличие широкого спектра препаратов для терапии и профилактики микотоксикозов [8, 9], разработка средств, которые, помимо детоксикации [10] и мобилизации защитных функций организма [11], направлены на предотвращение деструкции гепатоцитов и восстановление стабильного функционирования печени, является важной практической задачей.

В рамках решения данной задачи на

базе лаборатории микотоксинов ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ») было разработано профилактическое средство «Гепатопротект» на основе шрота расторопши, бентонита, янтарной кислоты, витаминов Е и А [12]. В связи с чем, целью настоящего исследования стало изучение влияния разработанного средства на сохранение морфологии гепатоцитов крыс в условиях экспериментального афлатоксикоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа выполнена сотрудниками лаборатории микотоксинов и лаборатории морфологических исследований на базе ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Объектом исследования служили белые крысы, которые были разделены на 3 группы (по 6 голов в каждой) по принципу аналогов с учетом массы, пола и возраста:

Группа 1 – биологический контроль (получали основной рацион).

Группа 2 – токсический контроль (основной рацион, экспериментально контаминированный афлатоксином В₁ в дозе 1,5 мг/кг – 10 суток).

Группа 3 – группа опыта (основной рацион, контаминированный афлатоксином В₁ в дозе 1,5 мг/кг – 10 суток, кормовая добавка «Гепатопротект» из расчета 25 г/кг корма – 14 суток).

Перед началом опыта крыс, полученных из питомника, помещали на карантин – 14 суток.

Крыс выводили из эксперимента, применяя эвтаназийную декапитацию согласно «Международным рекомендациям этического кодекса по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных», после

чего осуществляли отбор проб печени для гистологического и ультраструктурного исследований.

Для гистологического исследования образцы печени фиксировали в 10 % забуференном формалине, после чего осуществляли вырезку фрагментов тканей для проводки и заливки в парафин. Сформированные парафиновые блоки нарезали на срезы толщиной 5 мкм с использованием санного микротомы MC-2. Готовые срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Цифровые снимки получали с помощью камеры Leica DFC 320 (Германия), установленной на микроскопе Leica DM 1000 (Германия).

Для ультраструктурных исследований фрагменты печени размером 1 мм³ помещали в 1 % раствор глутарового альдегида на сутки. Далее проводили постфиксацию и дегидратацию образцов с последующим заключением в смесь эпоновых смол [13]. Полученные блоки нарезали на ультратоме LKB III (Швеция). Срезы монтировали на медные сетки с полимерной подложкой и контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Обсериацию срезов выполняли на электронном микроскопе Jeol JEM-100 CX-II, съемку – на фототехническую пленку Agfa orthochromatic.

Математическую обработку данных осуществляли методом вариационной статистики с применением теста Манна-Уитни с поправкой на множественные сравнения Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Согласно результатам гистологического исследования, в препарате печени крыс из группы биологического контроля (рисунок 1А) обнаружены следующие изменения: стенки центральных вен сохранены (1), в сосудах портальных трактов выявлены пристеночные скопления эозинофильной плазмы с диффузно расположенными в ней эритроцитами (2). Паренхима печени однородная, балочное строение сохранено. В большинстве гепатоцитов можно наблюдать крупные темнокрашенные ядра. Часть гепатоцитов с незначительными участками просветле-

ния в цитоплазме (3).

На рисунке 1Б представлен препарат печени крысы из группы «Токсический контроль». В сосудах портальных трактов присутствуют незначительные скопления плазмы с единичными лимфоидными клетками (1). Просветы центральных вен суженные, запустелые (2). Паренхима печени неоднородная, с явлениями дискомплексации печеночных балок. Цитоплазма большинства перипортальных гепатоцитов с участками просветлений, сохранившиеся ядра в состоянии пикноза, зачастую оттеснены к мембране. По мере продвижения к центральным венам можно дифференцировать участки паренхимы в виде бесструктурной слабоокисильной массы. Гепатоциты, окружающие центральные вены также в состоянии частичной либо тотальной деструкции (3).

Гистологическое исследование препарата печени животного из группы, получавшей афлатоксин В₁ с кормовой добавкой «Гепатопротект» (рисунок 1В), показало, что строение центральных вен сохранено (1), но сосуды микроциркуляторного русла местами расширены скоплениями эритроцитов (2). В центролобулярных зонах отчетливо дифференцируется балочное строение. Незначительное количество гепатоцитов с участками просветлений в цитоплазме (3).

При гистологическом исследовании препаратов печени группы биологического контроля выявлены незначительные изменения, вероятно индуцированные возрастом и особенностями метаболизма животных. Тогда как у крыс группы токсического контроля обнаружены изменения в печени, характерные для острого токсического гепатита с явлениями гидрорической дистрофии и некроза, что можно интерпретировать как результат воздействия афлатоксина В₁. В печени крыс, получавших афлатоксин В₁ в сочетании с кормовой добавкой «Гепатопротект» признаки токсического гепатита менее выражены в сравнении с печенью крыс из группы токсического контроля, что указывает на позитивный эффект при скормливании разработанной

кормовой добавки.

При анализе результатов ультраструктурного исследования печени крыс регистрировали следующую картину. На электронограмме гепатоцитов крыс из группы биологического контроля ядра округлой формы, хроматин расположен диффузно (рисунок 2А). Перинуклеарное пространство равномерной ширины по всему периметру ядра. В ядерной оболочке отчетливо просматриваются поры. Реже наблюда-

ли двоядерные клетки. Митохондрии в основном удлиненной формы с плотным матриксом, в некоторых присутствуют ламеллярные кристы. В цитоплазме локализуется гликоген, пероксисомы отсутствуют. Эндоплазматическая сеть хорошо визуализируется по всему периметру снимков, развита в околоядерной зоне. Вышеописанная картина соответствует нативному состоянию ультраструктур печени.

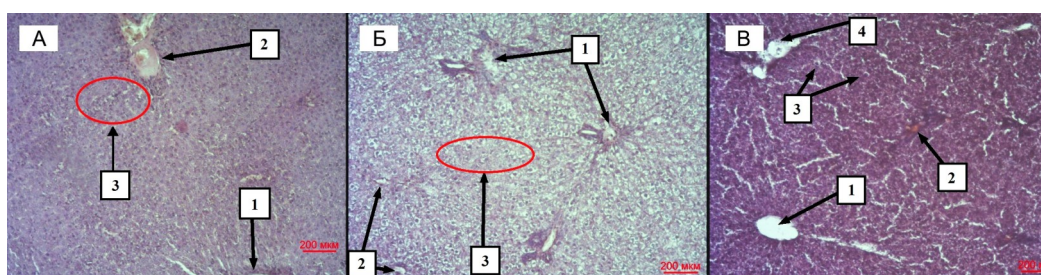


Рисунок 1 – Печень крыс; А – Биологический контроль (1 – центральная вена, 2 – портальный тракт, 3 – гепатоциты с участками просветления); Б – Токсический контроль (1 – портальный тракт, 2 – центральная вена, 3 – гепатоциты в состоянии деструкции); В – Группа опыта (1 – центральная вена, 2 – скопление эритроцитов, 3 – гепатоциты с участками просветления, 4 – портальный тракт). Ув. 400.

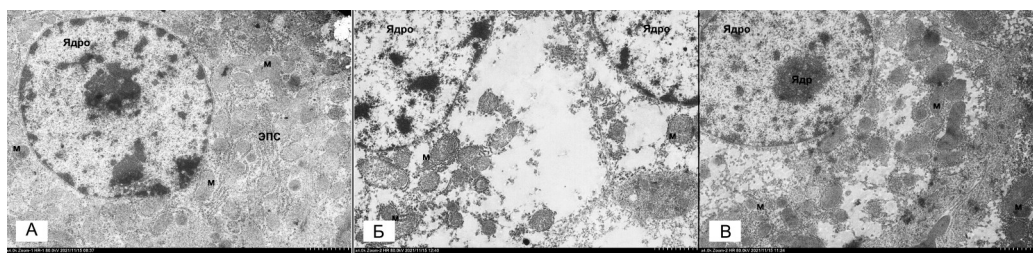


Рисунок 2 – Гепатоциты крыс; А – Биологический контроль; Токсический контроль; В – Группа опыта. Примечание: м – митохондрии, ЭПС – эндоплазматическая сеть, Ядр – ядрышко.

На электронограмме гепатоцитов крыс из группы токсического контроля обнаружены признаки деформации ядерных оболочек. Во внешнем контуре ядра неровности, изломы и впадины (рисунок 2Б). Гетерохроматин слабо выражен, просветленный. Хроматин переориентирован и дезинтегрирован, однородный по всему ядру. В ядрах отмечено наличие ядрышек. Цитоплазма, в основном, электронно-светлая с редкими включениями разного

генеза. Визуализируются фрагменты эндоплазматической сети. Кристы в митохондриях не просматриваются, имеются разрывы мембран с деструкцией как мембран, так и целых органелл, матриксы в основном средней электронной плотности, местами просветленный.

Для ядер гепатоцитов крыс из группы, получавшей афлатоксин В₁ с кормовой добавкой «Гепатопротект», характерна округло-овальная форма, в кариоплаз-

ме присутствуют ядрышки (рисунок 2В), хроматин конденсированный. В кариолемме просматриваются ядерные поры, перинуклеарное пространство не увеличено. Цитоплазма средней электронной плотности. Митохондрии разные по фор-

ме и размерам, кристы почти не просматриваются. У некоторых митохондрий матрикс высокой электронной плотности. Пероксисомы отсутствуют, встречаются розетки гликогена.

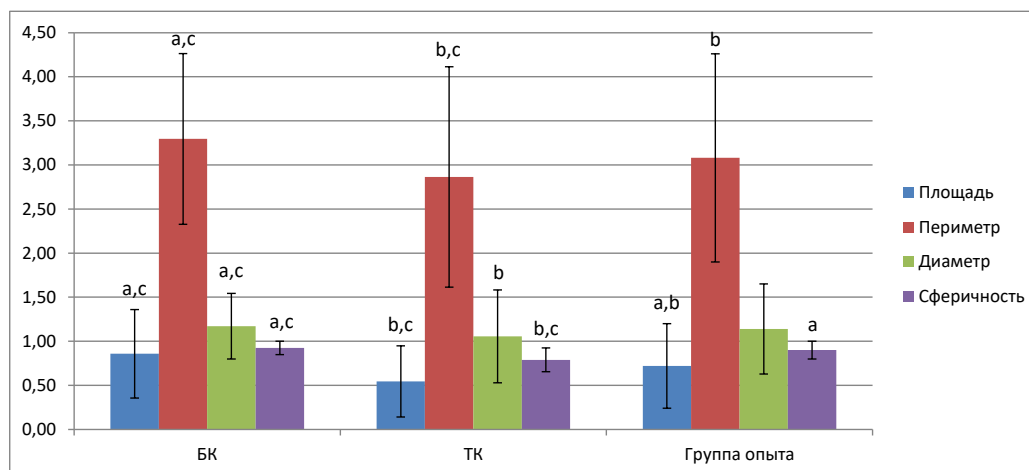


Рисунок 3 – Морфометрические показатели митохондрий гепатоцитов крыс исследуемых групп. Показаны средние значения и их стандартные отклонения (вертикальные линии); а – наличие статистически значимых отличий от группы токсического контроля; b – наличие статистически значимых отличий от группы биологического контроля; c – наличие статистически значимых отличий от группы, получавшей афлатоксин В₁ с кормовой добавкой «Гепатопротект».

По результатам морфометрического анализа митохондрий гепатоцитов крыс были выявлены статистически значимые отличия группы биологического контроля от группы экспериментального афлатоксикоза по всем исследованным показателям, что говорит о существенном влиянии афлатоксина В₁ на ультраструктурную организацию гепатоцитов. Несмотря на то, что два из четырех морфометрических показателей митохондрий гепатоцитов (площадь, периметр) в группе опыта значимо ($p < 0,05$ с поправкой Бонферрони) отличаются от группы биологического контроля, в то же время имеются отличия и от группы токсического контроля (площадь, сферичность), что позволяет характеризовать исследуемые параметры как промежуточные между двумя другими группами. Эти результаты можно интерпретировать как подтверждение нали-

чия протективного эффекта кормовой добавки «Гепатопротект» в отношении митохондрий гепатоцитов белых крыс.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

По результатам гистологического исследования было установлено, что кормовая добавка «Гепатопротект» оказывает положительное влияние на сохранение гистоархитектоники печени при экспериментальном моделировании афлатоксикоза. Эти данные соотносятся с ультраструктурным исследованием гепатоцитов, которое показало наличие протективного эффекта кормовой добавки «Гепатопротект» в отношении митохондрий, являющихся основным источником энергетического обмена в клетке. Таким образом разработанное средство профилактики микотоксикозов, в частности, инициированных афлатоксином В₁, способствует поддержанию процессов кле-

точного дыхания, снижая риск гипоксии, приводящей к массовой гибели гепатоцитов.

PREVENTIVE STIMULATION OF PROTECTIVE LIVER FUNCTION IN RATS AGAINST THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL AFLATOXICOSIS

Streltsova Ya.B. – Candidate of Biological Sciences, Scientific researcher, lab. of morphological research (ORCID 0000-0002-5898-9152); **Yusupova K.V.*** – Candidate of Veterinary Sciences, Scientific researcher, lab. of morphological research (ORCID 0000-0001-8597-3458); **Khafizova A.M.** – Junior researcher, lab. of morphological research (ORCID 0009-0008-2380-0701); **Kashevarov G.S.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher lab. of morphological research (ORCID 0000-0002-4520-7596); **Matrosova L.E.** – Doctor of Biological Sciences, leading researcher Mycotoxin lab. (ORCID 0000-0001-7428-7882); **Tanaseva S.A.** – Candidate of Biological Sciences, leading researcher Mycotoxin lab. (ORCID 0000-0003-1295-6184); **Dombrovsky V.O.** – postgraduate student (ORCID 0000-0002-8960-0971)

FSBSI «Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety»

* kse.perf@gmail.com

ABSTRACT

Mycotoxicosis continues to be an urgent problem in the agricultural sector, as mycotoxins are widespread as contaminants in feed and food products. The mold fungus of the genus *Aspergillus* secretes several types of aflatoxins (B₁, B₂, G₁ and G₂), of which aflatoxin B₁ belongs to the group of particularly dangerous. Aflatoxin B₁ exhibits tropism to hepatocytes, destabilizing the processes of metabolism and detoxification in the organ, and the development of pathological changes at the macro- and microscopic levels disrupts the basic functions of the liver, which in turn induces multiple organ failure. The purpose of this work is to study the effect of the preventive agent «Hepatoprotect» developed on the basis of

the FSBSI «FCTRBS-ARRVI» on the preservation of the rat hepatocytes morphology in conditions of experimental aflatoxicosis. The object of the study was white rats, which were divided into 3 groups (6 heads each) according to the principle of analogues, taking into account weight, gender and age. The first group served as the biological control of the experiment. The second was a toxic control that received aflatoxin B₁ with food. The third group was simultaneously given food contaminated with aflatoxin B₁ and the «Hepatoprotect» dietary supplement. After euthanasia, liver samples were taken, which were examined at the histological and ultrastructural levels. The results of the histological examination demonstrated the positive effect of the feed additive «Hepatoprotect» on the preservation of the rat liver histoarchitectonics in conditions of experimental aflatoxicosis. Based on the data of the ultrastructural study and their statistical processing, the protective effect of the feed additive «Hepatoprotect» against the mitochondria of white rat hepatocytes was also confirmed. The developed means of preventing mycotoxicosis contributes to the maintenance of cellular respiration processes, reducing the risk of hypoxia, leading to the mass death of hepatocytes.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Матросова, Л. Е., Семенов Э. И., Танасева С. А., Смоленцев С. Ю. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса свиней при афлатоксикозе // Мясная индустрия. – 2015 – №5. – С. 51-52.
2. Peng X., Bai S., Ding X. et al. Pathological changes in the immune organs of broiler chickens fed on corn naturally contaminated with aflatoxins B₁ and B₂. *Avian Pathology*. – 2015; (3). 192-199.
3. Idiyatov I.I., Eroshin A.I., Yusupov S.A., Tremasova A.M., Biryulya V.V. Endophytic bacteria antagonists of the micromycete *Aspergillus flavus*: the prospect of improving the quality of food raw materials and food products // В сборнике: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Сер. «International Scientific and Practical Conference: Development of the Agro-

Industrial Complex in the Context of Robotization and Digitalization of Production in Russia and Abroad, DAICRA 2021» 2022. – С. 012072.

4.Потехина Р. М., Тарасова Е. Ю., Матросова Л. Е. [и др.] Грибы рода *Aspergillus* – возбудители болезней животных и птиц: монография / Казань: Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2020. – 121 с.

5.Мухарлямова, А. З., Трemasова А. М., Танасева С. А., Шангараев Н. Г., Софроньев П. В., Семенов Э. И. Морфологические и биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019 – Т. 238 – № 2 – С. 133-138.

6.Губеева Е. Г., Халикова К. Ф., Алеев Д. В., Егоров В. И., Сайтов В. Р., Папуниди К. Х. Изучение гистоструктуры печени цыплят-бройлеров при хронической интоксикации имидаклопридом на фоне применения сорбентов // Ветеринарный врач. – 2019. – № 1. – С. 8-12.

7.Сайтов В. Р., Сальникова М. М., Голубев А. И., Кашеваров Г. С., Иванов В. В., Малютин Л. В., Иванов В. В. Изменения ультраструктуры паренхимы печени и почек животных после хронического воздействия ксенобиотиков // Монография. – Казань: Издательство Казанского университета, 2023. – 108 с.

8.Понамарев В. С., Попова О. С. Влияние препарата «Гепатон» в сочетании с фитосорбционным комплексом на уровень эндогенной интоксикации // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 3. – С. 124-125.

9.К. С. Choi, W. T. Chung, J. K. Kwon [et al.] Inhibitory effects of quercetin on aflatoxin B1-induced hepatic damage in mice // Food Chem. Toxicol. – 2010. - Vol. 48. – P. 2747-2753.

10.Тарасова Е. Ю., Ермолаева О. К., Мишина Н. Н., Сайтов В. Р. Поиск эффективных адсорбентов при афлатоксикозе // Мосоловские чтения: Материалы Международной научно-практической конфе-

ренции (Выпуск XXIII) «Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства». – Йошкар-Ола, 2021. – С. 609-611.

11.Тарасова Е. Ю., Кашеваров Г. С., Сайтов В. Р., Перфилова К. В., Яруллин А. И. Изучение защитного действия профилактических комплексов на ультраструктуру гепатоцитов кроликов при сочетанном микотоксикозе // Ветеринарный врач. – 2023. – № 1. – С. 57-63.

12.Домбровский В. О., Матросова Л. Е., Сагдеев Д. Р., Сагдеева З. Х. Оценка эффективности кормовой добавки «Гепатопротект» при остром токсическом гепатите кроликов // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2024. – Т. 10. – № 3 (39). – С. 220-226.

13.Кашеваров Г. С., Сайтов В. Р., Юсупова К. В., Хафизова А. М., Баймухаметов Ф. З., Яруллин А. И. Методическое пособие по проведению морфологических исследований на тканевом и ультраструктурном уровне // Санкт-Петербург, 2024.

REFERENCES

1. Matrosova, L. E., Semenov, E. I., Tanaseva, S. A., Smolentsev, S. Yu. Veterinary and sanitary examination of pig meat with aflatoxicosis // Meat industry. – 2015 – №5. – P. 51-52.
2. Peng X., Bai S., Ding X. et al. Pathological changes in the immune organs of broiler chickens fed on corn naturally contaminated with aflatoxins B1 and B2. Avian Pathology. – 2015; (3). 192-199.
3. Idiyatov I.I., Eroshin A.I., Yusupov S.A., Tremasova A.M., Biryulya V.V. Endophytic bacteria antagonists of the micromycete *Aspergillus flavus*: the prospect of improving the quality of food raw materials and food products // В сборнике: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Сер. «International Scientific and Practical Conference: Development of the Agro-Industrial Complex in the Context of Robotization and Digitalization of Production in Russia and Abroad, DAICRA 2021»

2022. – С. 012072.

4. Potekhina R. M., Tarasova E. Y., Matrosova L. E. [et al.] Fungi of the genus *Aspergillus* – pathogens of animal and bird diseases: monograph / Kazan: Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, 2020. – 121 p.

5. Mukharlyamova, A. Z., Tremasova A.M., Tanaseva S. A., Shangaraev N. G., Sofronov P. V., Semenov E. I. Morphological and biochemical parameters of rabbit blood in experimental aflatoxicosis with the use of retinol acetate and zeolite // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2019 – Vol. 238 – №2 – P. 133-138.

6. Gubeeva E. G., Khalikova K. F., Aleev D. V., Egorov V. I., Saitov V. R., Papunidi K. H. Study of liver histostructure of broiler chickens with chronic imidacloprid intoxication against the background of sorbent use // Veterinarian. – 2019. – №1. – P. 8-12.

7. Saitov V. R., Salnikova M. M., Golubev A. I., Kashevarov G. S., Ivanov V. V., Malyutina L. V., Ivanov V. V. Changes in the ultrastructure of liver parenchyma and kidneys of animals after chronic exposure to xenobiotics // Monograph. – Kazan: Kazan University Press, 2023. – 108 p.

8. Ponamarev V. S., Popova O. S. The effect of the drug «Hepaton» in combination with a phytosorption complex on the level of endogenous intoxication // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2020. – №. 3. – P. 124-125.

9. K. C. Choi, W. T. Chung, J. K. Kwon [et al.] Inhibitory effects of quercetin on aflatoxin B1-induced hepatic damage in mice // Food Chem. Toxicol. – 2010. – Vol. 48. – P. 2747-2753.

10. Tarasova E. Yu., Ermolaeva O. K., Mishina N. N., Saitov V. R. Search for effective adsorbents for aflatoxicosis // Mosolov readings: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (Issue XXIII) «Topical issues of improving production technology and processing of agricultural products». – Yoshkar-Ola, 2021. – P. 609-611.

11. Tarasova E. Yu., Kashevarov G. S., Saitov V. R., Perfilova K. V., Yarullin A. I. Study of the protective effect of preventive complexes on the ultrastructure of rabbit hepatocytes in combined mycotoxicosis // Veterinarian. – 2023. – №1. – P. 57-63.

12. Dombrovsky V. O., Matrosova L. E., Sagdeev D. R., Sagdeeva Z. H. Evaluation of the effectiveness of the feed additive «Hepatoprotect» in acute toxic hepatitis of rabbits // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic sciences. – 2024. – T. 10. – № 3 (39). – P. 220-226.

13. Kashevarov G. S., Saitov V. R., Yusupova K. V., Khafizova A.M., Baymukhametov F. Z., Yarullin A. I. Methodological guide for conducting morphological studies at the tissue and ultrastructural level // Saint Petersburg, 2024.

УДК: 619:616.2:636.2:577.21

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.297

ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ПРИ РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИИ У ТЕЛЯТ

Шутиков В.А. – мл. науч. сотр. (ORCID 0009-0004-2018-2662);
Рудь Д.Е. – соиск.; Стрельников Н.А. – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0781-7713);
Гуныкин Д.В. – мл. науч. сотр., (ORCID 0009-0005-3460-8123);
Михайлов Е. В. * – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5457-1325)

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт
патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»)

*voronezh81@rambler.ru

Ключевые слова: телята, респираторная патология, бронхопневмония, уровень экспрессии генов, антиоксидантная защита.

Keywords: calves, respiratory pathology, bronchopneumonia, gene expression level, antioxidant protection.

Поступила: 26.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Целью настоящего исследования являлась оценка относительного уровня экспрессии генов, кодирующих ключевые ферменты антиоксидантной защиты, а именно супероксиддисмутазу (SOD), каталазу (CAT) и глутатионпероксидазу (GPX), у телят с респираторной патологией. Респираторные заболевания характеризуются дисбалансом между прооксидантными и антиоксидантными механизмами. Развивающийся оксидативный стресс усугубляет течение заболевания и может быть использован в качестве мишени для терапевтического воздействия. Для достижения поставленной цели использовался метод количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени, материалом исследования служила периферическая кровь больных и здоровых телят. Для опыта были отобраны здоровые 3-х месячные телята (n=10) и больные (n=10) того же возраста животные с респираторной патологией. Результаты показали статистически значимое повышение экспрессии гена HIF-1 α в крови у телят с респираторной патологией, что указывает на активацию гипоксического ответа. Экспрессия гена SOD1 также была повышена, что может указывать на компенсаторную реакцию оксидативного стресса. Кроме того, у больных телят была повышена экспрессия гена GPX1, что может свидетельствовать об усилении детоксикации перекиси водорода в ответ на повышенную продукцию активных форм кислорода. В то же время, экспрессия гена CAT не показала статистически значимых различий между группами. Повышение экспрессии HIF-1 α , SOD1 и GPX1 в крови больных телят отражает активацию компенсаторных механизмов в ответ на гипоксию и окислительный стресс. Отсутствие значимых изменений в экспрессии каталазы может свидетельствовать о том, что на ранних стадиях заболевания этот ген не вовлечен в компенсаторные процессы в достаточной степени, либо его активация происходит на более поздних этапах.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Респираторные заболевания телят представляют собой одну из наиболее значимых проблем современного животноводства. Их распространенность и тяжесть течения обуславливают значительные экономические потери, связанные с затратами на лечение, снижением продуктивности и падежом [5,8]. В последние годы возрастает интерес к роли окислительного стресса в патогенезе респираторных заболеваний и поиску новых терапевтических подходов, направленных на коррекцию антиоксидантного статуса организма [1,9].

Окислительный стресс является одним из ключевых патогенетических механизмов при респираторных заболеваниях различной этиологии [10]. Мурадян и соавт. [7] отмечают, что воспалительный процесс в легочной ткани сопровождается гиперпродукцией активных форм кислорода (АФК) фагоцитирующими клетками, что приводит к повреждению клеточных мембран и нарушению функциональной активности альвеолярных клеток. В исследованиях Lykkesfeldt и Svendsen [13] показано, что у животных с бронхопневмонией наблюдается достоверное повышение продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови и легочной ткани.

Система антиоксидантной защиты (АОЗ) играет важнейшую роль в регуляции редокс-гомеостаза и предотвращении окислительного повреждения тканей [4]. Она включает ферментативные компоненты, такие как супероксиддисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатионпероксидаза (GPX), и неферментативные антиоксиданты – витамины А, Е, С, глутатион и другие [2]. У больных животных наблюдается дисбаланс между оксидантной и антиоксидантной системами, что усугубляет течение заболевания и замедляет процессы выздоровления [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были проведены в крупном животноводческом комплексе Воронежской области. Для проведения

опыта по оценке относительного уровня экспрессии генов антиоксидантного статуса были отобраны здоровые 3-х месячные телята (n=10) и больные (n=10) того же возраста животные с респираторной патологией. Для постановки диагноза использовали общеклинические и лабораторные методы. От животных исследуемых групп была взята кровь из яремной вены для дальнейшего изучения.

Кровь для лабораторных исследований от телят каждой группы отбирали для сравнительной оценки уровня экспрессии генов антиоксидантной системы и активности ферментов АОС у здоровых и больных животных. На протяжении всего опыта проводили клинические наблюдения, учитывали заболеваемость и падеж. Кровь для лабораторных исследований помещали в пробирки Эппендорфа и подвергали глубокой заморозке с использованием жидкого азота.

Полимеразную цепную реакцию осуществляли на приборах Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, США), Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) и DTLite 4S1 (ДНК-Технология, Россия) с готовой коммерчески доступной смесью для PCR 5X qPCRMix-HS LowROX (Евроген, Россия). Выделение тотальной РНК осуществлено набором «РНК-Экстрен» (Синтол, Россия) по утвержденной инструкции. Качество выделенной РНК оценивали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Исследование проводили посредством ПЦР-анализа с добавлением красителя SYBR Green. Экспрессия генов рассчитывалась по методике $2^{-\Delta\Delta Ct}$, где сначала рассчитывается разница между геном домашнего хозяйства (контроля) и исследуемым геном ($\Delta Ct = Ct(\beta\text{-actin}) - Ct(\text{исследуемый ген})$). Полученное значение возводилось в степень $-\Delta\Delta Ct$. Для оценки экспрессии изучаемых генов использовалась панель специфичных праймеров для исследования уровней экспрессии генов, ответственных за иммунную и антиоксидантную систему (табл. 1).

Таблица 1 – Праймеры, используемые при постановке ПЦР в реальном времени (телята)

№	Название	Последовательность нуклеотидов
1	<i>β-actinf</i> <i>β-actinr</i>	CTCTTCCAGCCTTCCTTCCT GGGCAGTGATCTCTTTCTGC
2	<i>SOD1f</i> <i>SOD1r</i>	CACCATCCACTTCGAGGCAA GCACTGGTACAGCCTTGTGT
3	<i>CATf</i> <i>CATr</i>	TCACTCAGGTGCGGACTTTC GGATGCGGGAGCCATATTCA
4	<i>HIF-1αf</i> <i>HIF-1αr</i>	CCACGAGGAAATGAGAGAAATGCTT CCGCTGTGTATTTTGCTCTTTACC
5	<i>GPX1f</i> <i>GPX1r</i>	GAGCCCTTCAACCTGTCCTC GCGTTTTCTGATGCCCAAAC

Исследование показателей антиоксидантной защиты проведено в соответствии с «Методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма» [6].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного пакета Microsoft Excel 2019 с применением встроенных функций статистического анализа и надстройки "Анализ данных". Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. При нормальном распределении данные представляли в виде среднего арифметического значения (M) и стандартной ошибки среднего (m). Достоверность различий между группами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. При отсутствии нормального распределения применяли непараметрические методы статистики (критерий Манна-Уитни, критерий Уилкоксона). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Для выявления взаимосвязей между исследуемыми параметрами проводили корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции Пирсона (r). Силу корреляционной связи оценивали по шкале Чеддока: $0,1 < r < 0,3$ – слабая связь; $0,3 < r < 0,5$ – умеренная связь; $0,5 < r < 0,7$ – заметная связь; $0,7 < r < 0,9$ – высокая связь; $0,9 < r < 1,0$ – весьма высокая связь.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

Результаты исследования относительного уровня экспрессии генов антиокси-

дантной системы у здоровых телят и телят с респираторной патологией представлены на рисунке 1.

Изучение молекулярных механизмов респираторной патологии у телят выявило значимые изменения в экспрессии ключевых генов антиоксидантной защиты. Анализ показал, что у больных животных наблюдается усиление экспрессии ферментов, отвечающих за нейтрализацию активных форм кислорода: каталазы (CAT), глутатионпероксидазы 1 (GPX1) и супероксиддисмутазы 1 (SOD1). По сравнению со здоровыми особями, у телят с бронхопневмонией уровень экспрессии CAT превышал норму на 2,47%, в то время как экспрессия GPX1 продемонстрировала существенно более выраженное повышение — на 53,7%. Активность гена SOD1 также оказалась повышенной, превосходя показатели контрольной группы на 9,8%. Примечательно, что одновременно с этим зафиксировано выраженное увеличение экспрессии фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа (HIF-1α), в 2,17 раза превышающее нормальные значения. Сочетание повышенной активности генов антиоксидантной системы с гиперэкспрессией HIF-1α свидетельствует о развитии у больных телят комплексной патофизиологической реакции, включающей окислительный стресс и гипоксические состояния в тканях респираторного тракта [11,15].

Из данных таблицы 2 можно наблюдать, что активность каталазы у здоровых телят выше, чем у больных, на 8,38%

($p \leq 0,01$). Активность глутатионпероксидазы в обеих группах совпадает, однако у больных телят наблюдается незначительное снижение показателя, что указывает на возможные изменения в ферментативной антиоксидантной защите ($p \leq 0,05$).

Показатель СОД у здоровых телят превышает уровень больных на 6,55% ($p \leq 0,05$), что свидетельствует о более высокой активности антиоксидантных ферментов в данной группе.

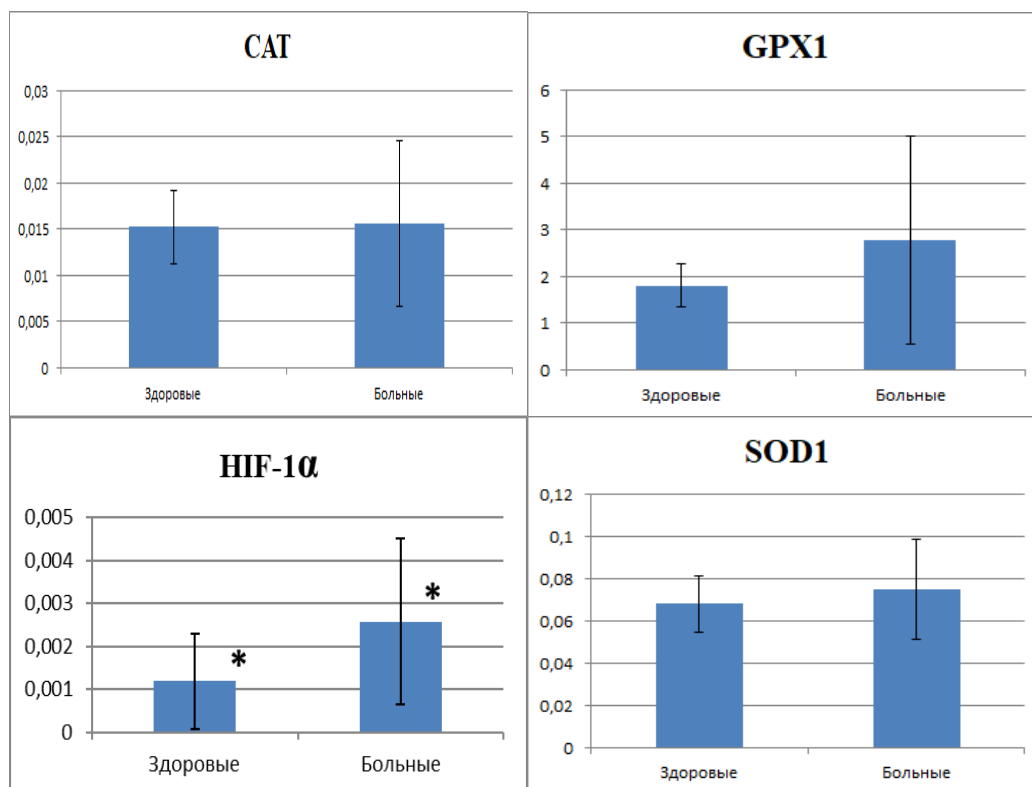


Рисунок 1 – Относительный уровень экспрессии генов антиоксидантной системы у здоровых телят и телят с респираторной патологией (* - $p \leq 0,05$).

Таблица 2 – Показатели системы ПОЛ-АОЗ

Показатели	Здоровые	Больные
Каталаза, ммоль вост перекиси/л*мин	34,73±1,22**	32,05±0,87
Глутатион пероксидаза, ммоль вост глут./л*мин	27,11±0,25	27,11±0,17
СОД (с.а./мг Нb)	1,432±0,052*	1,344±0,047

Примечание: * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$

Анализ корреляционных взаимосвязей выявил значительную степень сопряженности между фактором, индуцируемым гипоксией (HIF-1 α), и ключевыми компонентами антиоксидантной защиты. Наблюдаемая высокая положительная корреляция между HIF-1 α и супероксиддисмутазой (SOD1) ($r=0,72$) свидетельствует о тесной функциональной взаимосвязи этих параметров. Аналогично, заметная положительная связь между HIF-1 α и глутатионпероксидазой (GPX1) ($r=0,65$) подтверждает предположение о том, что гипоксический фактор активно участвует в регуляции экспрессии генов антиоксидантной защиты.

Данные корреляционные зависимости подкрепляют гипотезу о том, что в условиях тканевой гипоксии активируются компенсаторные механизмы, направленные на усиление антиоксидантной защиты для противодействия окислительному стрессу. Повышенная экспрессия HIF-1 α у больных телят, отмеченная в исследовании, может рассматриваться как адаптивная реакция организма, направленная на индукцию антиоксидантных ферментов в ответ на гипоксическое состояние.

Также стоит отметить наблюдающуюся разницу между уровнями экспрессии генов антиоксидантной защиты (CAT, SOD1 и GPX1) и активностью функциональных ферментов. Подобные отличия имеют обширную этиологию разнонаправленного характера. Среди основных причин выделяют стабильность мРНК, различные посттрансляционные модификации (окислительное фосфорилирование), окислительный стресс (вызывает инактивацию ферментов), влияние кофакторов, а также регуляция на уровне эпигенетических механизмов. Всё это может вызывать снижение активности ферментов на фоне более высокой экспрессии соответствующих генов [12, 14, 16].

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе респираторных заболеваний у телят. Изменение относительного уровня экспрессии генов антиоксидантной защиты организма может служить

потенциальным биомаркером для диагностики, мониторинга и разработки новых стратегий профилактики и лечения респираторных заболеваний. Полученные данные подтверждают, что респираторные патологии у телят связаны с развитием окислительного стресса и ~~недостатку~~ недостатком кислорода. В ответ на эти патологические изменения организм активирует компенсаторные процессы, что выражается в увеличении экспрессии генов GPX1, SOD1 и HIF-1 α .

RELATIVE EXPRESSION LEVEL OF ANTIOXIDANT PROTECTION GENES IN CALVES WITH RESPIRATORY PATHOLOGY

Shutikov V.A. – junior scientific co-author (ORCID 0009-0004-2018-2662); **Rud D.E.** – the applicant; **Strelnikov N.A.** – Junior scientific co. (ORCID 0000-0002-0781-7713); **Gunkin D.V.** – Junior scientific co. (ORCID 0009-0005-3460-8123); **Mikhailov E.V.** * – PhD in Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0001-5457-1325)

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy

*voronezh81@rambler.ru

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the relative expression levels of genes encoding key antioxidant enzymes, namely superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPX), in calves with respiratory disease. Respiratory diseases are also characterized by an imbalance between pro-oxidant and antioxidant mechanisms. Developing oxidative stress exacerbates the disease course and can be used as a target for therapeutic intervention. To achieve this goal, quantitative real-time polymerase chain reaction was used, with peripheral blood from sick and healthy calves serving as the research material. Healthy 3-month-old calves ($n=10$) and sick ($n=10$) animals of the same age with respiratory disease were selected for the experiment. The results showed a statistically significant increase in

HIF-1 α gene expression in the blood of calves with respiratory disease, indicating activation of the hypoxic response. SOD1 gene expression was also increased, which may indicate a compensatory reaction to oxidative stress. Furthermore, GPX1 gene expression was elevated in sick calves, which may indicate enhanced hydrogen peroxide detoxification in response to increased production of reactive oxygen species. At the same time, CAT gene expression did not show statistically significant differences between the groups. Increased expression of HIF-1 α , SOD1, and GPX1 in the blood of sick calves reflects the activation of compensatory mechanisms in response to hypoxia and oxidative stress. The lack of significant changes in catalase expression may indicate that, in the early stages of the disease, this gene is not involved in compensatory processes to a sufficient extent, or its activation occurs at later stages.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Басова Н.Ю., Старикова Е.А., Схатум А.К. Окислительный стресс у телят при респираторных патологиях // Ветеринария Кубани. 2019. № 2. С. 6-9. DOI: 10.33861/2071-8020-2019-2-6-9
2. Высокогорский В.Е., Воронова Т.Д., Веселов Д.С. Антиоксидантная система организма животных: механизмы регуляции и возрастные особенности // Ветеринарная патология. 2019. № 1. С. 23-30. DOI: 10.24411/0869-8015-2019-10004
3. Зайцева Е.В., Крапивина Е.В., Менькова А.А. Оксидативный стресс у молодняка при патологии // Вестник Брянской ГСХА. 2019. № 3. С. 31-35.
4. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Молекулярные механизмы работы антиоксидантной системы // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2018. № 2 (60). С. 203-207. DOI: 10.25631/tbsh.2018.60.2.203-207
5. Лысенко А.П., Красникова Е.Л., Влащенко В.В. Этиология и патогенез респираторных болезней телят // Ветеринария. 2019. № 3. С. 3-7. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.3.3-7
6. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М. И. Редкий, С. В. Шабунин, Г. Н. Блинецова [и др.]. – Воронеж: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, 2010. – 70 с.
7. Мурадян С.В., Петрова О.Г., Барашкин М.И. Особенности патогенеза респираторных заболеваний крупного рогатого скота // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2018. № 3. С. 58-61. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2018.3.58
8. Мурадян С.В., Петрова О.Г., Барашкин М.И. Респираторные вирусные инфекции крупного рогатого скота // Аграрный вестник Урала. 2018. № 8 (175). С. 45-49. DOI: 10.32417/article_5bf7aa18c9baa1.26199287
9. Петрянкин Ф.П., Семенов В.Г., Иванов Н.Г. Иммунокоррекция в биологии и ветеринарии. Чебоксары: Новое время, 2018. 168 с. DOI: 10.17238/isbn978-5-9909844-1-7
10. Karakike E., Giamarellos-Bourboulis E.J. Macrophage activation-like syndrome: a distinct entity leading to early death in sepsis // Frontiers in Immunology. 2019. Vol. 10. P. 55. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00055
11. Kim D.K., Lillehoj H.S., Lee S.H. Expression profiles of cytokines and chemokines against Eimeria maxima infection in two genetically distinct chicken lines // Poultry Science. 2018. Vol. 97. P. 1263-1273.
12. Lu Y. et al. Increased acetylation of H3K14 in the genomic regions that encode trained immunity enzymes in lysophosphatidylcholine-activated human aortic endothelial cells—novel qualification markers for chronic disease risk factors and conditional DAMPs // Redox biology. – 2019. – T. 24. – С. 101221.
13. Lykkesfeldt J., Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals // Veterinary Journal. 2019. Vol. 173. P. 502-511. DOI: 10.1016/j.tvjl.2018.06.005
14. Nogueira N. P. et al. Heme modulates

Trypanosoma cruzi bioenergetics inducing mitochondrial ROS production // Free Radical Biology and Medicine. – 2017. – T. 108. – C. 183-191.

15. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor 1: regulator of mitochondrial metabolism and mediator of ischemic preconditioning // Biochimica et Biophysica Acta. 2018. Vol. 1813. P. 1263-1268.

16. Tóth E. et al. The highly conserved, N-terminal (RXXX) 8 motif of mouse Shadoo mediates nuclear accumulation // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. – 2013. – T. 1833. – №. 5. – C. 1199-1211.

REFERENCES

1. Basova N.Yu., Starikova E.A., Shatum A.K. Oxidative stress in calves with respiratory pathologies // Veterinary Science of Kuban. 2019. No. 2. P. 6-9.

2. Vysokogorsky V.E., Voronova T.D., Veselov D.S. Antioxidant system of the animal body: regulatory mechanisms and age-related characteristics // Veterinary Pathology. 2019. No. 1. P. 23-30.

3. Zaitseva E.V., Krapivina E.V., Menkova A.A. Oxidative stress in young animals with pathology // Bulletin of the Bryansk State Agricultural Academy. 2019. No. 3. P. 31-35. DOI: 10.30679/2587-9847-2019-3-31-35

4. Kolesnichenko LS, Kulinsky VI Molecular mechanisms of the antioxidant system // Bulletin of the SB RAMS. 2018. No. 2 (60). P. 203-207.

5. Lysenko A.P., Krasnikova EL, Vlasenko VV Etiology and pathogenesis of respiratory diseases of calves // Veterinary science. 2019. No. 3. P. 3-7.

6. Methodological provisions for the study of free radical oxidation processes and the body's antioxidant defense system / M. I. Retsky, S. V. Shabunin, G. N. Bliznetsova [et al.]. - Voronezh: State Scientific Institution All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 2010. - 70 p.

7. Muradyan S. V., Petrova O. G., Barashkin M. I. Features of the pathogenesis of respiratory diseases in cattle // Issues of legal regu-

lation in veterinary medicine. 2018. No. 3. P. 58-61.

8. Muradyan S.V., Petrova O.G., Barashkin M.I. Respiratory viral infections of cattle // Agrarian Bulletin of the Urals. 2018. No. 8 (175). P. 45-49. DOI: 10.32417/article_5bf7aa18c9baa1.26199287

9. Petryankin F.P., Semenov V.G., Ivanov N.G. Immunocorrection in biology and veterinary medicine. Cheboksary: Novoye Vremya, 2018. 168 p.

10. Karakike E., Giamarellos-Bourboulis E.J. Macrophage activation-like syndrome: a distinct entity leading to early death in sepsis // Frontiers in Immunology. 2019. Vol. 10. P. 55. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00055

11. Kim D.K., Lillehoj H.S., Lee S.H. Expression profiles of cytokines and chemokines against Eimeria maxima infection in two genetically distinct chicken lines // Poultry Science. 2018. Vol. 97. P. 1263-1273.

12. Lu Y. et al. Increased acetylation of H3K14 in the genomic regions that encode trained immunity enzymes in lysophosphatidylcholine-activated human aortic endothelial cells—novel qualification markers for chronic disease risk factors and conditional DAMPs // Redox biology. – 2019. – T. 24. – P. 101221.

13. Lykkesfeldt J., Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals // Veterinary Journal. 2019. Vol. 173. P. 502-511. DOI: 10.1016/j.tvjl.2018.06.005

14. Nogueira N. P. et al. Heme modulates Trypanosoma cruzi bioenergetics inducing mitochondrial ROS production // Free Radical Biology and Medicine. – 2017. – T. 108. – P. 183-191.

15. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor 1: regulator of mitochondrial metabolism and mediator of ischemic preconditioning // Biochimica et Biophysica Acta. 2018. Vol. 1813. P. 1263-1268.

16. Toth E. et al. The highly conserved, N-terminal (RXXX) 8 motif of mouse Shadoo mediates nuclear accumulation // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. – 2013. – T. 1833. – No. 5. – pp. 1199-1211

УДК: 611.136.7:636.934.55-053

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.304

АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АРТЕРИАЛЬНОГО РУСЛА ПОЧЕК У САМЦОВ СОБОЛЯ ЧЕРНОЙ ПУШКИНСКОЙ ПОРОДЫ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Маленьких Н.А. – асп. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-9051-1749); Щипакин М.В. – д-р ветеринар. наук, проф., зав. кафедрой анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

* nadiamal150101@mail.ru

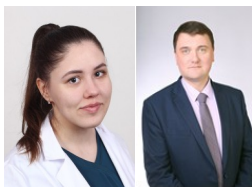
Ключевые слова: артериальное русло, вазорентгенография, соболеводство, артерии почек, кровоснабжение, мочевыделительная система.

Key words: arterial bed, vasorentgenography, sable breeding, renal arteries, blood supply, urinary system.

Поступила: 30.05.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

В настоящее время широко распространены заболевания пушных зверей, связанные с аппаратом мочевого выделения различной этиологии, что отображается на развитии всего организма, а как следствие ухудшение качества получаемой продукции – меха. Без знания морфологических особенностей строения органов мочевого выделения в возрастном аспекте проблематично диагностировать заболевания и патологии, а также проводить своевременное лечение. Цель исследования – изучить анатомо-топографические особенности хода и ветвления артерий почек самцов черной пушкинской породы в возрастном аспекте, а также определить их морфометрические параметры. Это позволит глубже понять механизмы адаптации сосудистой системы к специфическим условиям содержания и в последующем разработать рекомендации для оптимизации условий разведения соболей. Объектом для исследования послужили самцы соболей в возрасте 15-20 и 36-40 месяцев от рождения в количестве по шесть голов в каждой группе. Для достижения поставленной задачи использовали комплекс методов исследования: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование, вазорентгенография, изготовление коррозионных препаратов, компьютерная томография. При исследовании были установлены основные магистрали артериального русла, а также их ход и ветвление артерий почек у самцов соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте. Наблюдается основная динамика увеличения диаметра сосудов в среднем в 1,32 раза у особей в 36-40 месяцев жизни, по сравнению с соболями 15-20 месяцев от рождения. Установленные данные демонстрируют нормальные возрастные изменения сосудистой системы, характерные для периода роста молодых соболей пушкинской породы. Увеличение расстояния между почечными артериями на 51% и

диаметра аорты на 50% является прямым следствием общего увеличения размеров тела и развития сосудистой системы. Это обеспечивает адекватное кровоснабжение растущих органов за счет увеличения длины сосудистого русла и диаметра магистральных сосудов для пропускания большего объема крови. При этом сохраняются фундаментальные пропорции и закономерности ветвления сосудов (постоянный коэффициент сужения аорты после отхождения почечных артерий).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Российская Федерация занимает одну из ведущих позиций на рынке в сфере сельского хозяйства. Даже в современных условиях развитие пушных звероводческих хозяйств остаётся перспективным направлением. На зверофермах наиболее часто разводят представителей семейства куньих, преобладающее количество особей – это соболя чёрной пушкинской породы. Основной продукт, получаемый от соболей — мягкий, шелковистый и блестящий мех, изделия из которого характеризуются высоким качеством, эстетической привлекательностью, декоративными свойствами, а также отличается выдающимися теплоизоляционными и механическими характеристиками. С 1931 года в зверосовхозе «Пушкинский» велись селекционные работы, направленные на создание уникальной популяции соболя с характерной чёрной окраской, равномерно распределённой по всему телу. Эти особи значительно отличались от диких сородичей, что позволило выделить их в отдельную породу под названием «чёрный соболь». В дальнейшем данная порода была успешно внедрена в другие звероводческие хозяйства, что свидетельствует о её высокой адаптивности и коммерческой ценности [1-3].

Клеточное содержание пушных зверей с ограниченной подвижностью неизбежно приводит к анатомо-физиологическим изменениям, включая адаптационные перестройки сердечно-сосудистой системы. Кровеносная система, как сложная транспортная сеть, обеспечивает поддержание гомеостаза организма. Гемомикроциркуляторные сети, проходящие через все органы и ткани, обладают уникальными морфологическими и функциональными особенностями, которые формируются в процессе онто- и филогенеза. В настоящее время широко распространены забо-

левания пушных зверей, связанные с аппаратом мочевого выделения различной этиологии. Возникновение таких заболеваний как нефрит, нефроз, пиелонефрит, уретрит, цистит, недержание мочи отображается на развитии всего организма, а как следствие ухудшение качества получаемой продукции – меха. Без знания морфологических особенностей строения органов мочевого выделения в возрастном аспекте проблематично диагностировать заболевания и патологии, а также проводить своевременное лечение [4-6].

В свете вышеизложенного, представляется необходимым проведение детального и всестороннего исследования анатомо-адаптационных изменений сосудистой системы органов мочеотделения у соболей, содержащихся в условиях ограниченной подвижности. Цель исследования – изучить анатомо-топографические особенности хода и ветвления артерий почек самцов черной пушкинской породы в возрастном аспекте, а также определить их морфометрические параметры. Это позволит глубже понять механизмы адаптации сосудистой системы к специфическим условиям содержания и в последующем разработать рекомендации для оптимизации условий разведения соболей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Кадаверный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ со звероводческого хозяйства Ленинградской области. Объектом для исследования послужили самцы соболей в возрасте 15-20 и 36-40 месяцев от рождения в количестве по шесть голов в каждой группе. Для достижения поставленной задачи использовали

комплекс методов исследования: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование, вазорентгенография и измерение диаметра артерий с помощью компьютерной программы «RadiAnt», изготовление коррозионных препаратов с использованием безусадочных пластмассовых масс акрилового ряда, компьютерная томография. Исследованию подвергали трупы соболей черной пушкинской породы, полученные от клинически здоровых животных [7-14].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследования было установлено, что кровоснабжение почек у соболя черной пушкинской породы осуществляется по правой и левой почечным артериям (a. renalis), которые берут своё начало от брюшной аорты (aorta abdominalis) на уровне L2-L3. Брюшная аорта – самый крупный сосуд большого круга кровообращения, является продолжением грудной аорты в брюшной полости. Она отдаёт две группы крупных ветвей: парietальные и висцеральные. Parietalные ветви снабжают кровью мышцы брюшной стенки и позвоночника, часть спинного мозга и его оболочки. Висцеральные ветви питают внутренние органы брюшной полости. Почечные артерии относятся к висцеральным ветвям брюшной аорты (Рис. 1).

Правая почечная артерия отходит от аорты краниальнее левой, и расстояние между ними в первой возрастной группе в среднем составляет $1,68 \pm 0,10$ мм, к возрасту второй возрастной группы этот показатель равен $2,53 \pm 0,18$ мм и увеличивается в 1,51 раза по отношению к собакам 15-20 месяцев от рождения. В первой возрастной группе диаметр аорты перед отхождением правой почечной артерии составляет $2,56 \pm 0,10$ мм, диаметр аорты в промежутке между двумя почечными артериями составил $2,32 \pm 0,12$ мм, после отхождения левой почечной артерии – $2,24 \pm 0,12$ мм. Во второй возрастной группе эти показатели увеличиваются в 1,50 раза и составляют: диаметр аорты перед отхождением правой почечной артерии – $3,74 \pm 0,16$ мм, диаметр аорты в промежут-

ке между двумя почечными артериями – $3,46 \pm 0,16$ мм, после отхождения левой почечной артерии – $3,36 \pm 0,12$ мм. Таким образом, при ответвлении магистральных почечных сосудов диаметр брюшной аорты уменьшается в среднем в 1,13 раза.

Правая почечная артерия ответвляется от брюшной аорты с латеральной поверхности под углом около $45-50^\circ$ на уровне тела второго поясничного позвонка, а левая почечная артерия – на уровне между вторым и третьим поясничным позвонком под углом $15-20^\circ$, с вентролатеральной поверхности брюшной аорты. Сразу после отхождения диаметр правой почечной артерии в первой возрастной группе составляет $1,38 \pm 0,12$ мм и простирается в длину в среднем на $8,38 \pm 0,20$ мм. Во второй возрастной группе диаметр правой почечной артерии составляет $1,86 \pm 0,14$ мм, а длина $15,18 \pm 0,24$ мм. Диаметр левой почечной артерии в первой возрастной группе слабо отличается, и равен $1,34 \pm 0,14$ мм, а длина сосуда равна $5,82 \pm 0,12$ мм. Во второй возрастной группе левая почечная артерия составляет $1,81 \pm 0,16$ мм в диаметре, а по длине в среднем $9,84 \pm 0,16$ мм. Таким образом, в двух возрастных группах наблюдается следующая закономерность: в среднем диаметр правой и левой почечной артерии с возрастным становлением увеличивается в 1,35 раз, а длина в 1,75 раз. При этом правая почечная артерия длиннее левой в 1,49 раз в двух группах.

Правая почечная артерия после магистрального типа ответвления от брюшной аорты направляется каудально, затем плавно поворачивает краниодорсально, после чего на уровне каудального конца L1 направляется вентролатерально в сторону ворот почек. Левая почечная артерия под более острым углом отходит от брюшной аорты, направляется каудодорсально, образует первый резкий поворот и в краниодорсальном направлении второй раз поворачивает, направляясь каудовентрально в сторону ворот почек.

Не доходя до ворот почек, правая и левая почечные артерии делятся дихотомически на краниальную и каудальную

артерии, от которых отходят сегментарные артерии. При этом каудальная почечная артерия почти сразу бифуркационно делится на две сегментарные ветви, не достигая ворот органа. От каудальной сегментарной артерии отходит мочеточниковая ветвь (*ramus uretericus*), а от краниальной – капсулярная ветвь (*rami capsulares*). Сегментарные артерии делятся по магистральному типу на междольковые артерии (*aa. interlobares renis*). Далее междольковые артерии на уровне коркового и мозгового вещества почки разветвляются на дуговые артерии (*aa. arcuatae*), их деле-

ние происходит по магистральному и рассыпному типам. Дуговые артерии делятся по рассыпному и магистральному типам на междольковые артерии (*aa. interlobulares*). В свою очередь междольковые артерии переходят во внутридольковые артерии. Часть этих артерий направляется в толщу коры почки. Внутридольковые артерии дают начало приносящим артериолам клубочков (*arteriola glomerularis afferens*) и образуют клубочки почечных телец, переходя в капилляры «чудесной артериальной сети» (Рис. 2).

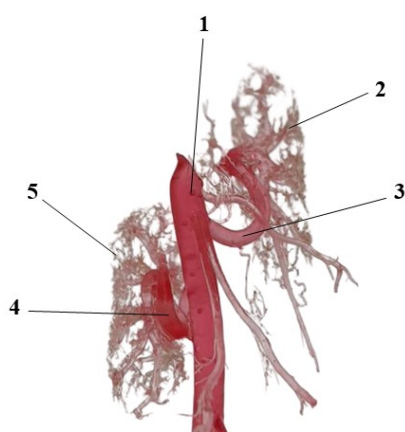


Рисунок 1 – Артерии почек соболя черной пушкинской породы в дорсовентральной проекции. Возраст 36-40 месяцев. Коррозионный препарат с инъецированием безусадочных масс акрилового ряда.
1 – брюшная аорта; 2 – внутриорганное русло правой почки; 3 – правая почечная артерия; 4 – левая почечная артерия; 5 – внутриорганное русло левой почки.

При проведении морфометрии сосудов правой почки у соболей черной пушкинской породы из первой возрастной группы было установлено, что диаметр краниальной и каудальной почечных артерий равен в среднем $1,04 \pm 0,07$ мм и $1,13 \pm 0,08$ мм, а у второй возрастной группы – $1,23 \pm 0,09$ мм и $1,33 \pm 0,09$ мм соот-

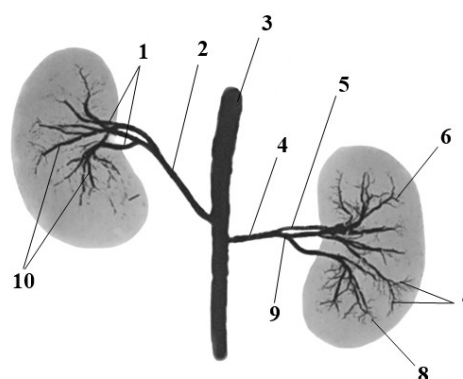


Рисунок 2 – Артерии почек соболя черной пушкинской породы в вентродорсальной проекции. Возраст 36-40 месяцев. Инъекция сосудов свинцовым суриком на живичном скипидаре.
1 – сегментарные артерии; 2 – правая почечная артерия; 3 – брюшная аорта; 4 – левая почечная артерия; 5 – краниальная почечная артерия; 6 – дуговая артерия; 7 – междольковые артерии; 8 – внутридольковая артерия; 9 – каудальная почечная артерия; 10 – междольковые артерии.

ветственно. Диаметр сегментарных артерий составляет в среднем в первой возрастной группе – $0,98 \pm 0,06$ мм, а у второй группы – $1,06 \pm 0,07$ мм. Измерение диаметра междольковых артерий показало, что их диаметр в первой группе равняется в среднем $0,70 \pm 0,04$ мм, а у второй возрастной группы – $0,83 \pm 0,05$ мм. Диаметр ду-

говых артерий составляет в среднем $0,42 \pm 0,03$ мм и $0,55 \pm 0,04$ мм, у первой и второй возрастных групп соответственно. При измерении диаметра междольковых артерий стало известно, что их диаметр равняется в среднем в первой возрастной

группе $0,28 \pm 0,02$ мм, а у второй группы – $0,38 \pm 0,03$ мм. Калибр внутريدольковых артерий составляет в среднем у первой группы $0,13 \pm 0,01$ мм, а у второй возрастной группы – $0,18 \pm 0,02$ мм (Табл. 1).

Таблица 1 – Морфометрические показатели диаметра артерий правой почки самцов соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте

Название артерий	Параметры	Самцы соболя 15-20 месяцев	Самцы соболя 36-40 месяцев
Аорта	мм	$2,56 \pm 0,10$	$3,74 \pm 0,16^*$
Правая почечная артерия	мм	$1,38 \pm 0,12$	$1,86 \pm 0,14^*$
Краниальная почечная артерия	мм	$1,04 \pm 0,07$	$1,23 \pm 0,09^*$
Каудальная почечная артерия	мм	$1,13 \pm 0,08$	$1,33 \pm 0,09^*$
Сегментарные артерии	мм	$0,98 \pm 0,06$	$1,06 \pm 0,07^*$
Междольковые артерии	мм	$0,70 \pm 0,04$	$0,83 \pm 0,05^*$
Дуговые артерии	мм	$0,42 \pm 0,03$	$0,55 \pm 0,04^*$
Междольковые артерии	мм	$0,28 \pm 0,02$	$0,38 \pm 0,03^*$
Внутридольковые артерии	мм	$0,13 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,02^*$

Примечание: * $P < 0,05$ уровень достоверности при сравнении с соболями 15-20 месяцев от рождения.

Таблица 2 – Морфометрические показатели диаметра артерий левой почки самцов соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте

Название артерий	Параметры	Самцы соболя 15-20 месяцев	Самцы соболя 36-40 месяцев
Аорта	мм	$2,56 \pm 0,10$	$3,74 \pm 0,16^*$
Левая почечная артерия	мм	$1,34 \pm 0,14$	$1,81 \pm 0,16^*$
Краниальная почечная артерия	мм	$1,02 \pm 0,06$	$1,21 \pm 0,08^*$
Каудальная почечная артерия	мм	$1,10 \pm 0,07$	$1,29 \pm 0,09^*$
Сегментарные артерии	мм	$0,93 \pm 0,06$	$1,03 \pm 0,07^*$
Междольковые артерии	мм	$0,67 \pm 0,04$	$0,81 \pm 0,05^*$
Дуговые артерии	мм	$0,40 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,04^*$
Междольковые артерии	мм	$0,26 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,03^*$
Внутридольковые артерии	мм	$0,12 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,02^*$

Примечание: * $P < 0,05$ уровень достоверности при сравнении с соболями 15-20 месяцев от рождения.

При проведении морфометрии сосудов левой почки у соболей черной пушкинской породы из первой возрастной группы было установлено, что диаметр краниальной и каудальной почечных артерий равен в среднем $1,02 \pm 0,06$ мм и $1,10 \pm 0,07$ мм, а у второй возрастной группы – $1,21 \pm 0,08$ мм и $1,29 \pm 0,09$ мм соответственно. Диаметр сегментарных артерий составляет в среднем в первой возрастной группе – $0,93 \pm 0,06$ мм, а у второй группы – $1,03 \pm 0,07$ мм. Измерение диаметра междольевых артерий показало, что их диаметр в первой группе равняется в среднем $0,67 \pm 0,04$ мм, а у второй возрастной группы – $0,81 \pm 0,05$ мм. Диаметр дуговых артерий составляет в среднем $0,40 \pm 0,03$ мм и $0,51 \pm 0,04$ мм, у первой и второй возрастных групп соответственно. При измерении диаметра междольковых артерий стало известно, что их диаметр равняется в среднем в первой возрастной группе $0,26 \pm 0,02$ мм, а у второй группы – $0,35 \pm 0,03$ мм. Калибр внутридольковых артерий составляет в среднем у первой группы $0,12 \pm 0,01$ мм, а у второй возрастной группы – $0,16 \pm 0,02$ мм.

При анализе морфометрических данных, пришли к выводу, что во второй возрастной группе у соболей 36-40 месяцев диаметр краниальной и каудальной артерий увеличивается в среднем в 1,17 раза, сегментарных артерий в 1,09 раза, междольевых артерий в 1,19 раза. Диаметр дуговых артерий увеличивается в 1,28 раза, междольковых артерий в 1,34 раза, а калибр внутридольковых артерий увеличивается в 1,36 раза (Табл. 2).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, при исследовании были установлены основные магистрали артериального русла, а также их ход и ветвление артерий почек у самцов соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте. Наблюдается основная динамика увеличения диаметра сосудов в среднем в 1,32 раза у особей в 36-40 месяцев жизни, по сравнению с соболями 15-20 месяцев от рождения. Несмотря на клеточное содержание животных, соболей являются активными животными, а почки

– это жизненно важная система, обеспечивающая стабильность внутренней среды и нормальное функционирование всего организма. Их повреждение или недостаточность приводят к каскаду серьезных нарушений, ухудшающих качество жизни или угрожающих жизни. Правильно функционирующие почки – залог благополучия отдельных особей, а как следствие устойчивого развития отрасли, обеспечивая высокое качество меха. Установленные данные демонстрируют нормальные возрастные изменения сосудистой системы, характерные для периода роста молодых соболей пушкинской породы. Увеличение расстояния между почечными артериями на 51% и диаметра аорты на 50% является прямым следствием общего увеличения размеров тела и развития сосудистой системы. Это обеспечивает адекватное кровоснабжение растущих органов за счет увеличения длины сосудистого русла и диаметра магистральных сосудов для пропускания большего объема крови. При этом сохраняются фундаментальные пропорции и закономерности ветвления сосудов (постоянный коэффициент сужения аорты после отхождения почечных артерий).

MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE ARTERIAL BED OF THE KIDNEYS IN BLACK PUSHKIN SABLES IN THE AGE ASPECT

Malenkikh N.A. – Postgraduate student of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-9051-1749); Shchipakin M.V. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-2960-3222)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* Nadiamal150101@mail.ru

ABSTRACT

Currently, diseases of fur-bearing animals associated with the urinary tract of various ethologies are widespread, which affects the development of the entire organism, and as a result, the quality of the products

obtained is deteriorating - fur. Without knowledge of the morphological features of the structure of the urinary organs in the age aspect, it is problematic to diagnose diseases and pathologies, as well as to carry out timely treatment. The aim of the study was to study the anatomical and topographic features of the course and branching of the renal arteries of males of the black Pushkin breed in the age aspect, as well as to determine their morphometric parameters. This will allow us to better understand the mechanisms of adaptation of the vascular system to specific conditions of detention and subsequently develop recommendations for optimizing the breeding conditions of sables. The object of the study was male sables aged 15-20 and 36-40 months from birth, with six heads in each group. To achieve this goal, a set of research methods was used: fine anatomical dissection, morphometry, photographing, vasorentgenography, manufacture of corrosive preparations, computed tomography. The study established the main arterial routes, as well as their course and branching of the renal arteries in male sables of the black Pushkin breed in the age aspect. The main dynamics of vascular diameter increase is observed by an average of 1.32 times in individuals at 36-40 months of life, compared with sables 15-20 months from birth. The established data demonstrate normal age-related changes in the vascular system characteristic of the growth period of young sables of the Pushkin breed. A 51% increase in the distance between the renal arteries and a 50% increase in the diameter of the aorta is a direct consequence of the overall increase in body size and the development of the vascular system. This ensures an adequate blood supply to growing organs by increasing the length of the vascular bed and the diameter of the main vessels to allow more blood to pass through. At the same time, the fundamental proportions and patterns of vascular branching are preserved (a constant coefficient of narrowing of the aorta after the departure of the renal arteries).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Балакирев, Н.А. Современное состоя-

ние соболеводства в России / Н. А. Балакирев, Е. А. Орлова, Ларина Е.Е. // Вестник аграрной науки. – 2024. – №1 (106). – С. 6-12. DOI: 10.17238/issn2587-666X.2024.1.6

2. Бакеев, Н. Н. Соболь / Н. Н. Бакеев, Г. И. Монахов, А. А. Синицын. – Вятка: ГНУ ВНИИОЗ, 2003. – 336 с.

3. Орлова, Е. А. История и современное состояние породы черный соболь / Е. А. Орлова, О. И. Федорова // Современные проблемы зоотехнии: Сборник трудов по материалам Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию со дня рождения доктора сельскохозяйственных наук, профессора Бакай Анатолия Владимировича (1946-2020) в рамках Года науки и технологий Российской Федерации по тематике "Генетика и качество жизни", Москва, 14 декабря 2021 года. – Москва: ЗооВетКнига, 2022. – С. 150-156.

4. Маленьких, Н.А. Анатомо-топографические и морфометрические показатели почек соболя черной пушкинской породы / Н.А. Маленьких, М.В. Щипакин//Материалы 79-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ – 2025. – С 150-152.

5. Михеев, И.А. Анатомо-топографические особенности и артериальная васкуляризация органов мочевого деления норки // Проблемы и перспективы развития науки в институте ветеринарной медицины ОмГау: сб. науч. тр. Омск, 2002. – С. 159–161

6. Мельников, С. И. Ход и ветвление артерий почек и мочеточников у енотовидных собак / С. И. Мельников // Молодые ученые - науке и практике АПК: Материалы научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых, 27–28 апреля 2023 года /. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины", 2023. – С. 407-410.

7. Масленицын, К. О. Возрастная топография васкуляризации почек у коз англо-нубийской породы / К. О. Масленицын, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 1. – С. 100-

104.

8. Пидченко, Р. Д. Особенности васкуляризации почек свиней породы йоркшир на не которых этапах постнатального онтогенеза / Р. Д. Пидченко, М. В. Щипакин // Иппология и ветеринария. – 2022. – № 2(44). – С. 104-110.

9. Прусаков, А. В. Основные методики изучения артериальной системы, применяемые на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГАВМ / А. В. Прусаков, М. В. Щипакин, С. В. Вирунен, Ю. Ю. Бартенева, Д. В. Васильев // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – Санкт-Петербург, 2016. – № 4. – С.255–259.

10. Щипакин, М. В. Особенности строения, топографии и артериального кровоснабжения почек у кошки домашней / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленецкий, А. В. Прусаков, К. Ю. Брюшковский, К. А. Андреев, П. А. Сиповский // Иппология и ветеринария. – 2015. – №4 (18). – С. 60-62.

11. Сидоров, И. Д. Анатомические закономерности строения почки бурого медведя / И. Д. Сидоров, В. А. Хватов // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства: сборник трудов по материалам национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию со дня рождения Заслуженного работника высшей школы РФ, Почётного профессора Брянской ГСХА, доктора ветеринарных наук, профессора Ткачева А.А., Брянск, 27 октября 2023 года / Брянский государственный аграрный университет. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2023. – С. 125-127.

12. Лямкина, В. Ю. Сравнительная характеристика мочевыделительной системы кролика домашнего и зайца-русака / В. Ю. Лямкина, В. А. Хватов // Молодая аграрная наука : Материалы Международной научно-практической конференции (к 30-летию образования Майкопского государственного технологического университета, 1993-2023 гг.), Майкоп, 28 апреля 2023 года. – Майкоп: ИП Магарин Олег Григорьевич, 2023. – С. 293-296.

13. Хватов, В. А. Топография и сравнительная морфология почек у самок и самцов бройлеров кросса Росс-308 в возрасте 60 суток / В. А. Хватов, М. В. Щипакин, Д. В. Васильев // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – № 3. – С. 100-104. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.3.100.

14. Daescu, E. Morphological variability of the renal artery branching pattern: a brief review and an anatomical study / E. Daescu, D. E. Zahoi, A. Motoc, A. Alexa, F. Baderca, A. Enache // Rom J. Morphol. Embryol., 2012. – № 53. – p. 287-291

REFERENCES

1. Balakirev N.A., Orlova E.A., & Larina E.E. (2024). The current state of sable breeding in Russia. Bulletin of Agrarian Science, (1 (106)), 6-12. DOI: 10.17238/issn2587-666X.2024.1.6

2. Bakeev, N. N. Sobol / N. N. Bakeev, G. I. Monakhov, A. A. Sinitsyn. – Vyatka: GNU VNIIOZ, 2003. – 336 p.

3. Orlova, E. A. The history and current state of the black Sable breed / E. A. Orlova, O. I. Fedorova // Modern problems of animal science: Proceedings based on the materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 75th anniversary of the birth of Doctor of Agricultural Sciences, Professor Anatoly Vladimirovich Bakai (1946-2020) within the framework of the Year of Science and Technology of the Russian Federation on the topic "Genetics and quality of Life", Moscow, December 14, 2021. Moscow: ZooVetKniga, 2022, pp. 150-156.

4. Malykh, N.A. Anatomical, topographic and morphometric parameters of the kidneys of the sable of the black Pushkin breed / N.A. Malykh, M.V. Shchipakin//Materials of the 79th International Scientific Conference of young scientists and students of St. Petersburg State University of Veterinary Medicine - 2025. - From 150-152.

5. Mikheev, I.A. Anatomical and topographic features and arterial vascularization of the urinary organs of mink // Problems and prospects of science development at the Institute of Veterinary Medicine of OmGAU: collec-

- tion of scientific papers Omsk, 2002. pp. 159-161
6. Melnikov, S. I. Course and branching of the arteries of the kidneys and ureters in raccoon dogs / S. I. Melnikov // Young scientists - science and practice of the agroindustrial complex: Proceedings of the scientific and practical conference of graduate students and young scientists, April 27-28, 2023 /. - Vitebsk: Educational institution "Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy veterinary medicine ", 2023. pp. 407-410.
7. Maslenitsyn, K. O. Age-related topography of kidney vascularization in Anglo-Nubian goats / K. O. Maslenitsyn, M. V. Shchipakin // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2020. - No. 1. - pp. 100-104.
8. Pidchenko, R. D. Features of kidney vascularization in Yorkshire pigs at some stages of postnatal ontogenesis / R. D. Pidchenko, M. V. Shchipakin // Hippology and veterinary medicine. - 2022. - № 2(44). - Pp. 104-110.
9. Prusakov, A.V. Basic methods of studying the arterial system used at the Department of Animal Anatomy of the FSBI VO SPBGAVM / A.V. Prusakov, M. V. Shchipakin, S. V. Virunen, Yu. Yu. Barteneva, D. V. Vasiliev // Issues of regulatory law regulation in veterinary medicine. - St. Petersburg, 2016. - No. 4. - pp.255-259.
10. Shchipakin, M. V. Features of the structure, topography and arterial blood supply of kidneys in domestic cats / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov, K. Y. Bryushkovsky, K. A. Andreev, P. A. Sipovsky // Hippology and veterinary medicine. - 2015. - №4 (18). - Pp. 60-62.
11. Sidorov, I. D. Anatomical patterns of the structure of the kidney of a brown bear / I. D. Sidorov, V. A. Khvatov // Actual problems of veterinary medicine and intensive animal husbandry: proceedings based on the materials of the national scientific and practical conference with international participation dedicated to the 85th anniversary of the birth of the Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, Honorary Professor of the Bryansk State Agricultural Academy, Doctor of Veterinary Sciences, Professor Tkachev A.A., Bryansk, October 27, 2023 / Bryansk State Agrarian University. Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2023, pp. 125-127.
12. Lyamkina, V. Yu. Comparative characteristics of the urinary system of domestic rabbit and hare / V. Yu. Lyamkina, V. A. Khvatov // Young agrarian science: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (on the 30th anniversary of the formation of the Maikop State Technological University, 1993-2023), Maikop, April 28, 2023. - Maikop: IP Magarin Oleg Grigorievich, 2023. - pp. 293-296.
13. Khvatov, V. A. Topography and comparative morphology of kidneys in female and male Ross-308 cross broilers at the age of 60 days / V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin, D. V. Vasiliev // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. - 2022. - No. 3. - pp. 100-104. - DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.3.100.
14. Daescu, E. Morphological variability of the renal artery branching pattern: a brief review and an anatomical study / E. Daescu, D. E. Zahoi, A. Motoc, A. Alexa, F. Baderca, A. Enache // Rom J. Morphol. Embryol., 2012. - No. 53. - pp. 287-291

УДК: 611.145:611.722:599.735.51
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.313

ВЕНОЗНОЕ РУСЛО РЕБЕРНОШЕЙНОГО СТВОЛА У ТЕЛЯТ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ

Мельников С.И.^{1*} – канд. ветеринар. наук, асс. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-0963-8751); Туркина С.С.² – вет. врач ООО «Синтез»

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»
² ООО «Синтез»

* seeer_good97@mail.ru

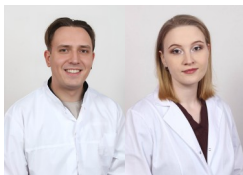
Ключевые слова: венозное русло, телята, поверхностная и глубокая магистраль, анастомоз, вена, дренаж, отток, реберношейный ствол.

Key words: venous bed, calves, superficial and deep trunk, anastomosis, vein, drainage, outflow, rib-cervical trunk.

Поступила: 21.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Особую значимость фундаментальные данные приобретают в хирургической практике, так как детальные знания анатомических особенностей и закономерностей хода и ветвления сосудистого русла критически важно при оперативных манипуляциях в области головы, шеи, позвоночного столба, особенно в контексте травматических повреждений. Цель исследования – установить анатомо-топографические особенности венозного русла реберношейного ствола у телят черно-пестрой породы и определить морфометрические параметры. Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ со свиноводческого комплекса Ленинградской области. В исследовании использовали семь трупов новорожденных телят черной-пестрой породы в возрасте 2-8 дней от рождения. В ходе исследования были установлены анатомо-топографические особенности венозного русла реберношейного ствола у телят черно-пестрой породы и определены морфометрические параметры. Венозное русло реберношейного ствола у телят черно-пестрой породы представляет собой высокоорганизованную и функционально адаптированную систему. Его ключевая значимость заключается в активном обеспечении эффективного оттока венозной крови от глубоких структур шеи, плечевого пояса и верхней части грудной клетки. Наличие многочисленных, хорошо развитых клапанов, распределенных в соответствии с диаметром сосудов, функциональной нагрузкой дренируемых мышц и локализацией относительно грудной полости, является жизненно необходимой адаптацией. Данная венозная система гарантирует надежный отток к сердцу, поддерживает метаболизм активно работающих мышц и обеспечивает стабильность кровоснабжения критически важной области тела животного, напрямую влияя на его двигательные и дыхательные функции.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Кровеносная система является жизненной магистралью любого животного, сложная сеть, обеспечивающая доставку кислорода, питательных веществ, гормонов и удаление продуктов метаболизма. Понимание ее устройства, функций и особенностей у различных видов животных является фундаментальным знанием для ветеринарного врача, напрямую влияющим на диагностику, лечение. Венозная система животных играет ключевую роль в поддержании гемодинамики: венозное русло обеспечивает не только возврат крови к сердцу, но и участвует в терморегуляции, метаболическом обмене и депонировании крови. Нарушения венозного оттока (например, при компрессии сосудов или тромбозах) могут провоцировать отёки, трофические язвы и прочие патологии, что особенно критично в животноводстве [1-5].

Венозная система головы, шеи и плечевого пояса у животных – это высокоадаптированная и надежная магистраль, где доминирующую роль играют яремные вены в сочетании с развитыми коллатеральными путями (включая позвоночные анастомозы) и защитными клапанными механизмами. Эти особенности эволюционно сформировались для обеспечения бесперебойного возврата крови к сердцу, несмотря на постоянные изменения положения головы и шеи, потенциальные внешние факторы и высокие метаболические потребности мозга. Надежность этой системы, обеспечиваемая дублированием путей оттока, критически важна для выживания животного, поддержания функции центральной нервной системы и эффективной терморегуляции. Особую значимость фундаментальные данные приобретают в хирургической практике, так как детальные знания анатомических особенностей и закономерностей хода и ветвления сосудистого русла критически важны при оперативных манипуляциях в области головы, шеи, позвоночного столба, особенно в контексте травматических повреждений [6-9].

Цель исследования – установить ана-

томо-топографические особенности венозного русла реберношейного ствола у телят черно-пестрой породы и определить морфометрические параметры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ со свиноводческого комплекса Ленинградской области.

В исследовании использовали семь трупов новорожденных телят черной-пестрой породы в возрасте 2-8 дней от рождения. Возраст определяли по бонитировочным карточкам и со слов главного ветеринарного врача комплекса. Для достижения поставленной задачи были использованы традиционные морфологические методы исследования, а именно: тонкое анатомическое препарирование, фотографирование, вазорентгенография с морфометрией в программе «RadiAnt» [10-12].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При исследовании мы установили, что венозный реберношейный ствол (*truncus venosus costocervicalis*) формируется с каждой стороны тела животного путем слияния нескольких магистральных вен. Правый венозный реберношейный ствол формируют такие вены как: поперечная шейная вена (*v. transversa colli*), глубокая шейная вена (*v. cervicalis profunda*), позвоночная вена (*v. vertebralis*), первая межреберная вена (*v. intercostalis prima*), а также вены тимуса и грудной части длинной мышцы шеи. Левый венозный реберношейный ствол принимает все перечисленные выше вены, а также дополнительно в него впадает левая межреберная вена (*v. intercostalis sinistra*), которая, в свою очередь, собирает кровь и от первой межреберной вены (Табл. 1). Оба ствола окончательно формируются в пространстве от первого ребра, на уровне его верхней трети, и направляются для впадения в краниальную по-

лую вену (*v. cava cranialis*) на уровне второго ребра. Важной анатомической особенностью является то, что каждый венозный реберношейный ствол снабжен клапанами. Непосредственно в его устье расположен однокармашковый клапан. На расстоянии примерно пяти см от этого устья по ходу ствола находится двухкармашковый клапан.

Поперечная шейная вена (*v. transversa colli*) располагается поверхностнее и каудальнее, чем глубокая шейная вена. По своему топографическому положению она соответствует латеральным притокам дорсальных межреберных ветвей, что подчеркивает ее роль в соединении поверхностного дренажа шеи и спины с более глубокой венозной магистралью грудной стенки. Образуется в результате слияния 3-4 притоков первого порядка. К основной функции ее относят сбор венозной крови от обширных участков кожи, а также от мышц, которые обеспечивают движение шеи, лопатки, спины: трапециевидной (*m. trapezius*), ромбовидной (*m. rhomboideus*), зубчатой вентральной (*m. serratus ventralis*), полуостистой мышцы головы (*m. semispinalis capitis*) и длиннейшей мышцы спины и шеи (*m. longissimus dorsi et cervicis*), расположенных в области последних шейных (C) и первых трех грудных (Th1-Th3) позвонков. По ходу своего ветвления она является важным поверхностным венозным коллектором, проходящим в вентральном и краниальном направлении вдоль медиальной поверхности зубчатой вентральной мышцы, следуя параллельно дорсокраниальному краю лопатки. По своему ходу вена образует анастомозы с латеральными и глубокими дорсальными притоками второй и третьей межреберных вен, а также с глубокой шейной веной, что создает дополнительные пути для оттока крови. Она впадает в глубокую шейную вену на уровне шейки первого ребра. Ее анастомозы с другими венозными системами (межреберные, глубокая шейная) имеют важное значение в области шеи, холки, где движение головы, шеи, лопаток могут потенциально временно сдавливать сосу-

ды. Наличие альтернативных путей снижает риск венозного застоя и отека тканей. В притоках поперечной шейной вены обычно встречаются однокармашковые клапаны, в то время как в основном стволе вены клапаны чаще двухкармашковые.

Глубокая шейная вена (*v. cervicalis profunda*) представляет собой одну из крупнейших дорсальных вен области шеи и спины. Особенностью строения является то, что ее притоки располагаются послойно и сегментарно (соответствуя уровням позвонков), часто бывают удвоены и образуют многочисленные анастомозы как между собой, так и с другими дорсальными венами, проходящими вдоль позвоночного столба от второго шейного позвонка (C2) до пятого-шестого грудного (Th5-Th6). Данная особенность позволяет эффективно производить сбор крови от каждого сегмента, что минимизирует путь дренажа, а самой венозной сети растягиваться и сжиматься без перегибов и нарушения кровотока при различных движениях шеи и спины. Глубокая шейная вена формируется тремя основными ветвями: дорсокраниальной (*ramus dorsocranialis*), поперечной (*ramus transversus*) и дорсокаудальной (*ramus dorsocaudalis*). Дорсокраниальная ветвь берет начало своими корнями на уровне второго шейного позвонка (C2). Отсюда она спускается в вентрокаудальном направлении по пластинчатой части выйной связки. По ходу в нее сегментарно впадают притоки второго порядка и вена выйной связки. Эта ветвь анастомозирует с позвоночной веной и одноименной (дорсокраниальной) веной противоположной стороны тела. Поперечная ветвь расположена на медиальной поверхности пластыревидной мышцы (*m. splenius*) и частично полуостистой мышцы головы (*m. semispinalis capitis*). Ее корни начинаются в вентральной зубчатой мышце (*m. serratus ventralis*), а также от подкожной и затылочно-остистой венозных сетей в области последних шейных (C) и первых трех грудных (Th1-Th3) позвонков. Поперечная ветвь образует анастомозы с грудноакромиальной веной (*v. thoracoacromi-*

alis), поперечной шейной веной (*v. transversa colli*) и дорсальными притоками межреберных вен. Дорсокаудальная ветвь формируется из трех основных истоков: ветви, идущей по вентральному краю остистой мышцы спины (*m. spinalis*); ветви, проходящей по дорсальному краю длиннейшей мышцы спины (*m. longissimus dorsi*); ветви, расположенной вдоль многораздельной мышцы спины (*m. multifidus*) на уровне основания остистых отростков первых пяти-шести грудных позвонков (Th1-Th5/6). Тем самым образование трех ветвей позволяет глубокой шейной вене быть ключевым связующим звеном между венозными магистралями головы, шеи, плечевого пояса и краниальной части туловища.

Позвоночная вена (*v. vertebralis*), играющая ключевую роль в дренаже глубоких структур шеи и спинного мозга, формируется в области эпистрофея и располагается в защищенном межпоперечном канале шейных позвонков, обеспечивая стабильный путь для венозного оттока. На уровне шестого шейного позвонка, что важно для топографии шейного кровотока, вена выходит из канала и направляется к краниальному краю верхней трети первого ребра, где сливается с глубокой шейной веной, формируя важный венозный коллектор. Существенное значение для регионального кровообращения имеет то, что по ходу позвоночной вены в каждом сегменте в нее впадают дорсальные, латеральные и вентральные притоки; посредством этих притоков она образует жизненно важные анастомозы с глубокой шейной веной, наружной яремной веной и одноименной веной противоположной стороны, создавая коллатеральные пути для стабилизации венозного оттока. Для обеспечения эффективного однонаправленного кровотока в позвоночной вене количество клапанов колеблется от 3 до 5, причем клапан постоянно присутствует в ее устье и у выхода из межпоперечного канала, что особенно важно при движении головы и шеи.

Левая передняя межреберная вена (*v. intercostalis suprema sinistra*), являющаяся

основным коллектором венозной крови от межреберных пространств и глубоких мышц спины левой части грудной стенки, образуется слиянием межреберных вен левой стороны и их притоков (*rami spinales, dorsales et laterales*). Эта вена, имеющая большое значение для оттока из грудной клетки, располагается в грудной полости на вентральной поверхности суставов реберных головок, вдоль дорсального края грудной части длинной мышцы шеи, и впадает в венозный реберно-шейный ствол на уровне верхней трети первого ребра. Будучи хорошо развитой, вена снабжена тремя-четырьмя клапанами, регулирующими кровоток против силы тяжести.

Правая передняя межреберная вена (*v. intercostalis suprema dextra*), в отличие от левой, также образуется слиянием межреберных вен с их притоками, но ее начальная часть имеет характерную извилистость, хорошо заметную на рентгенограммах, что имеет значение для диагностики. Эта извилистость объясняется прохождением вены между головкой и бугорком соответствующего ребра с последующим выходом в межреберье; данный путь повторяется до четвертого межреберья, после чего расположение правой вены становится подобным левой. Функционально важным является то, что на всех исследуемых препаратах правая вена развита лучше левой, и она впадает непосредственно в устье краниальной полой вены напротив третьего ребра, обеспечивая прямой и значительный отток венозной крови от правой части грудной стенки в магистральный венозный ствол.

Дорсальные ветви межреберных вен, играющие важную роль в венозном дренаже дорсальных отделов грудной стенки, формируются путем слияния их глубоких и поверхностных притоков. Особое функциональное значение имеют поверхностные притоки, достигающие значительного развития; они представляют собой жизненно важные пути оттока крови от мощных дорсальных мышц грудной стенки и мышц плечевого пояса, обеспечивая эффективное удаление продуктов

метаболизма после мышечной активности. Эти поверхностные магистрали образуют анастомозы с грудокраниальной (v. thoracoacromialis) и подлопаточной (v. subscapularis) венами; данные анастомозы создают важные коллатеральные связи между системой передних межреберных вен и подмышечной веной (v. axillaris), что обеспечивает гибкость венозного оттока и возможность перераспределения крови при изменении положения тела или компрессии основных путей. Дополни-

тельную устойчивость кровотоку придают латеральные притоки межреберных вен двух-трех смежных сегментов: они анастомозируют между собой, формируя под лопаткой замкнутую, крупнопетливую сеть треугольной или овальной формы; эта стратегически расположенная сеть служит функциональным резервом, стабилизируя венозный возврат от широкой области латеральной грудной стенки и лопатки во время движений конечности и дыхательных движений.

Таблица 1 – Морфометрические показатели венозного реберношейного ствола у телят черно-пестрой породы

Наименование вены	Длина сосуда (см)	Диаметр сосуда (мм)	Количество клапанов (шт)	Клапанный индекс
Венозный реберношейный ствол	5,85±0,50	4,65±0,40	2	0,34
Поперечная шейная вена	4,95±0,50	1,60±0,10	3	0,61
Глубокая шейная вена	5,75±0,55	4,15±0,45	2	0,35
Позвоночная вена	30,75±3,10	6,85±0,70	4	0,13
Левая передняя межреберная вена	9,85±1,00	4,60±0,40	3	0,30
Правая передняя межреберная вена	10,75±1,15	4,85±0,50	3	0,28

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе исследования были установлены анатомо-топографические особенности венозного русла реберношейного ствола у телят черно-пестрой породы и определены морфометрические параметры. Венозное русло реберношейного ствола у телят черно-пестрой породы представляет собой высокоорганизованную и функционально адаптированную систему. Его ключевая значимость заключается в активном обеспечении эффективного оттока венозной крови от глубоких структур шеи, плечевого пояса и верхней части грудной клетки. Наличие многочисленных, хорошо развитых клапанов, распределенных в соответствии с диаметром сосудов, функциональной нагрузкой дренируемых мышц и локализацией относительно грудной полости, является жизненно необходимой адаптацией. Данная венозная система гарантирует надежный отток к сердцу, поддерживает метаболизм

активно работающих мышц и обеспечивает стабильность кровоснабжения критически важной области тела животного, напрямую влияя на его двигательные и дыхательные функции.

VENOUS BED OF THE COSTAL-CERVICAL TRUNK IN BLACK-AND-WHITE CALVES

Melnikov S.I.¹ – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-0963-8751). **Tursina S.S.**² – veterinarian

¹ St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

² Sintez LLC

* seeer_good97@mail.ru

ABSTRACT

Fundamental data are of particular importance in surgical practice, since detailed knowledge of the anatomical features and

patterns of the course and branching of the vascular bed is critically important for surgical manipulations in the head, neck, and spinal column, especially in the context of traumatic injuries. The aim of the study was to establish anatomical and topographic features of the venous bed of the rib-necked trunk in black-and-white calves and to determine morphometric parameters. The study was conducted at the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. Cadaveric material for the study was delivered to the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State Pedagogical University from the pig breeding complex of the Leningrad region. The study used seven corpses of newborn calves of black and mottled breed aged 2-8 days from birth. During the study, anatomical and topographic features of the venous bed of the rib-necked trunk in calves of the black-and-white breed were established and morphometric parameters were determined. The venous bed of the rib-necked trunk in black-and-white calves is a highly organized and functionally adapted system. Its key importance lies in the active provision of an effective outflow of venous blood from the deep structures of the neck, shoulder girdle and upper chest. The presence of numerous, well-developed valves distributed according to the diameter of the vessels, the functional load of the drained muscles and the localization relative to the thoracic cavity is a vital adaptation. This venous system guarantees a reliable outflow to the heart, supports the metabolism of actively working muscles and ensures stable blood supply to a critical area of the animal's body, directly affecting its motor and respiratory functions.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Маленьких, Н. А. Венозная васкуляризация туловища свиньи породы ландрас / Н. А. Маленьких, С. И. Мельников // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: материалы XI международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 24-25 ноября 2022 года. - Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. - С. 251-252. Щипакин, М. В.
2. Былинская, Д. С. Анатомия венозного протока у плода северного оленя / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, В. А. Хватов // Иппология и ветеринария. - 2022. - № 4(46). - С. 51-57.
3. Щипакин, М.В. Кровоснабжение головного мозга шиншиллы длиннохвостой (*chinchilla lanigera*) / М.В. Щипакин, Н.В. Зеленовский, А.В. Прусаков, Д.С. Былинская, Ю.Ю. Бартенева, Д.В. Васильев, А.С. Стратонов, В.А. Хватов // Иппология и ветеринария 2019. - №2 (32). - С. - 90-93.
4. Компьютерная томография общей сонной артерии и ее ветвей у кошки бенгальской породы / Д. В. Васильев, Д. С. Былинская, В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ, Санкт-Петербург, 25–29 января 2021 года. - Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. - С. 16-18.
5. Артериальное кровоснабжение органов головы речного бобра / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, С. Ю. Пишванов [и др.] // Международный вестник ветеринарии. - 2016. - № 2. - С. 61-65.
6. Methods for studying the ductus venosus in animals / S. Melnikov, D. Bylinskaya, N. Zelenevskiy [et al.] // FASEB Journal. - 2022. - Vol. 36, No. S1. - P. 3727. - DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3727.
7. Зеленовский, Н. В. Практикум по ветеринарной анатомии: учебное пособие: в 3-х томах / Н. В. Зеленовский, М. В. Щипакин; Зеленовский Н.В., Щипакин М.В. Том 2. - 2-е издание, дополненное и уточненное. - Санкт-Петербург: Информационно-консалтинговый центр Информационно-консалтинговый центр Информационно-консалтинговый центр, 2014. - 317 с.
8. Отток венозной крови от шейного отдела спинного мозга у телят / Д. С. Былин-

ская, М. В. Щипакин, Д. В. Васильев, В. А. Хватов // Морфология в XXI веке: теория, методология, практика: Сборник трудов всероссийской (национальной) научно-практической конференции, Москва, 01–04 июня 2021 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2021. – С. 34-36.

9. Эпидуральное позвоночное венозное сплетение шейного отдела позвоночного столба у телят / Д. С. Былинская, Н. В. Зеленовский, А. В. Прусаков [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2019. – № 4(34). – С. 63-66.

10. Артериальные магистрали стило- и зейгоподия грудной конечности шиншиллы длиннохвостой / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленовский, А. В. Прусаков [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2019. – № 3(33). – С. 156-159.

11. Архитектоника венозного русла области бедра и голени собак / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, С. В. Вирунен, Д. С. Былинская // Образование, наука, практика: инновационный аспект: Сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной Дню российской науки, Пенза, 05–06 февраля 2015 года / ФГБОУ ВПО "Пензенская государственная сельскохозяйственная академия". Том II. – Пенза: Пензенская государственная сельскохозяйственная академия, 2015. – С. 207-209.

12.. Щипакин, М.В. Скелетотопия вен стопы овец эдильбаевской породы / М. В. Щипакин // Сборник научных трудов XIV международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии в формате PARTNERS, Москва, 05–06 декабря 2024 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2025. – С. 445-449.

REFERENCES

1. Malykhich, N. A. Venous vascularization of the trunk of a Landrace pig / N. A. Malykhich, S. I. Melnikov // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: proceedings of the XI International scientific conference of students, post-graduates and young scientists, St. Petersburg, November 24-25, 2022. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022, pp. 251-252. Shchipakin, M. V.
2. Bylinskaya, D. S. Anatomy of the venous duct in the fetus of a reindeer / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, V. A. Khvatov // Hippology and veterinary medicine. – 2022. – № 4(46). – Pp. 51-57.
3. Shchipakin, M.V. Blood supply to the brain of chinchilla long-tailed (chinchilla lanigera) / M.V. Shchipakin, N.V. Zelenevsky, A.V. Prusakov, D.S. Bylinskaya, Yu.Yu. Barteneva, D.V. Vasiliev, A.S. Stratonov, V.A. Khvatov // Hippology and veterinary medicine 2019. – №2 (32). – Pp. 90-93.
4. Computed tomography of the common carotid artery and its branches in a Bengali cat / D. V. Vasiliev, D. S. Bylinskaya, V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin // Proceedings of the national scientific conference of faculty, researchers and graduate students of St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, January 25-29, 2021. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2021, pp. 16-18.
5. Arterial blood supply to the organs of the river beaver's head / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, S. Y. Pishvanov [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2016. – No. 2. – pp. 61-65.
6. Methods for studying the ductus venosus in animals / S. Melnikov, D. Bylinskaya, N. Zelenevsky [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3727. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3727.
7. Zelenevsky, N. V. Practicum on veterinary anatomy: textbook: in 3 volumes / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin; Zelenevsky N.V., Shchipakin M.V. Volume 2. – 2nd edition, supplemented and clarified. Saint

Petersburg: Information and Consulting Center Information and Consulting Center Information and Consulting Center, 2014. 317 p.

8. Venous blood outflow from the cervical spinal cord in calves / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, D. V. Vasiliev, V. A. Khvatov // Morphology in the XXI century: theory, methodology, practice: Proceedings of the All-Russian (national) scientific and practical conference, Moscow, June 01-04, 2021. Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K.I. Scriabin", 2021, pp. 34-36.

9. Epidural vertebral venous plexus of the cervical spine in calves / D. S. Bylinskaya, N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2019. – № 4(34). – Pp. 63-66.

10. Arterial highways of stylo- and zygapodia of the thoracic limb of the long-tailed chinchilla / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2019. – № 3(33). – Pp. 156-159.

11. Architectonics of the venous bed of the thigh and shin area of dogs / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, S. V. Virunen, D. S. Bylinskaya // Education, science, practice: an innovative aspect: A collection of materials of the International scientific and practical Conference dedicated to the Day of Russian Science, Penza, 05-06 February 2015 / FSBEI HPE "Penza State Agricultural Academy". Volume II. Penza: Penza State Agricultural Academy, 2015, pp. 207-209.

12. Shchipakin, M.V. Skeletotopy of the foot veins of sheep of the Edilbaev breed / M. V. Shchipakin // Collection of scientific papers of the XIV International Interuniversity conference on Clinical Veterinary medicine in the PARTNERS format, Moscow, December 05-06, 2024. Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Scriabin", 2025, pp. 445-449.



АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК: 575.222:636.7.082.13

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.321

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *FSHR* И *INHBA* У СОБАК РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД

Богданова С.С.¹ – мл. науч. сотр. лаборатории биологии развития (ORCID 0009-0007-9411-9887); Крутикова А.А.^{1*} – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории молекулярной генетики (ORCID 0000-0003-2561-145X); Никиткина Е.В.¹ – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277); Рябова А.Е.¹ – мл. науч. сотр. лаборатории молекулярной генетики (ORCID 0000-0003-2362-2892); Мусидрай А.А.² – канд. биол. наук, вед. науч. сотр., вед. науч. сотр. отд. жив-ва и рац. природопользования Арктики (ORCID 0000-0002-0079-9938); Племяшов К.В.³ – член-корр. академии РАН, доктор ветеринарных наук, ректор (ORCID 0000-0002-3658-5886); Волков К.С.⁴ – ветеринарный врач (ORCID 0009-0005-7988-528X); Анипченко П.С.⁵ – асп. (ORCID 0000-0001-8871-550X).

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

² ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН»

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

⁴ ООО «ВКС»

⁵ Университет Перуджи

* anntim2575@mail.ru

Ключевые слова: геном; собаки; полиморфизм генов; *INHBA* и *FSHR*; эякулят кобелей, *SNP*.

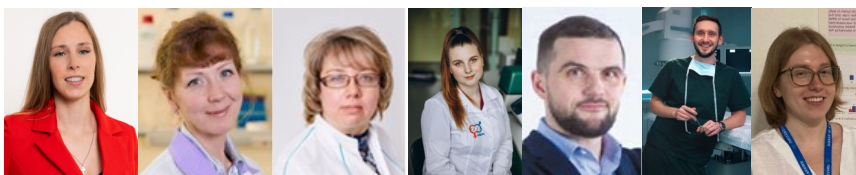
Key words: genome; dogs; gene polymorphism; *INHBA* and *FSHR*; male ejaculate, *SNP*.

Финансирование: работа проведена в рамках выполнения научных исследований Министерства науки и высшего образования РФ по теме № 124020200127-7.

Поступила: 06.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

По мере увеличения объема данных о геномных вариациях,

инструменты, способные оценить функциональное влияние отдельных нуклеотидных последовательностей, становятся все более актуальными. Существует несколько серверов прогнозирования, доступных для интерпретации влияния вариантов в геноме человека, но немногие из них были разработаны для других видов, и ни один из них не был специально разработан для видов, представляющих интерес для ветеринарии, таких как собаки. [1] Рецепторы гликопептидных гормонов млекопитающих являются ключевыми регуляторами репродуктивного развития, и их гомологи широко распространены в животном мире. [2] Интерес нашей научной группы направлен на поиск генных вариаций перспективных для дальнейших исследований ассоциаций в области репродуктологии собак. В связи с этим была выбрана группа генов, потенциально влияющих на качество спермы кобелей. На основании базы данных генов человека GeneCards® были выбраны следующие гены: ген *INHBA* (Inhibin subunit Beta A), связанный с активацией и ингибированием фолликулостимулирующего гормона гипофизом, кодируемый этим геном белок играет важную роль в развитии глаз, зубов и яичек [11], а также ген *FSHR* (follicle stimulating hormone receptor), белок, кодируемый этим геном, относится к семейству 1 рецепторов, связанных с G-белком. Он является рецептором фолликулостимулирующего гормона и участвует в развитии половых желез [11]. Мутации в этом гене вызывают дисгенезию яичников 1-го типа, а также синдром гиперстимуляции яичников у людей [11]. Нами была выдвинута гипотеза, что гены *INHBA* и *FSHR* могут влиять на качество эякулята у кобелей. Исследования в области полиморфизмов генов *INHBA* и *FSHR* которые вошли в данное исследование, были проведены ранее на овцах [3] и быках [4].

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Развитие ветеринарной репродуктологии позволяет использовать новые инструменты для анализа фертильного потенциала производителей. В настоящее время достаточно широко изучены показатели качества эякулята у собак [5], влияние эндокринной системы на показатели качества спермы [6], а также инструменты коррекции возможных известных инфекционных и неинфекционных патологий [7].

С целью получения новых знаний в области вариативности генетического полиморфизма в генах, потенциально связанных с воспроизводительной функцией собак, нами было собрано 37 эякулятов от 37 кобелей различных пород в возрасте от 1 года до 7 лет. Выделено ДНК фенол-хлороформным методом, с последующим секвенированием некоторых локусов кодирующих участков выбранных генов.

В данной публикации мы приведем найденные SNP у кобелей различных пород.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

ДНК выделяли стандартным фенол-хлороформным методом с использовани-

ем протеиназы К [12] из спермы кобелей. Эякуляты кобелей различных пород n=37 собирались мануальным методом. Перед проведением секвенирования исследуемый участок гена был амплифицирован. Последовательности праймеров, которые использовались для амплификации генов: 1. D-FSHR-9e-F cca-ttg-tgg-gta-gcc-ctc-tg, 2. D-FSHR-9e-R gta-ccg-agg-gtg-cct-cta-ct 3. D-FSHR-10e-F tct-ggg-cta-aat-ggc-gta-gag 4. D-FSHR-10e-R tgt-att-tgc-cat-tcc-gga-ccc 5. D-INHBA-2e-F: tcg-ccc-gaa-atg-agt-gag-tg 6. D-INHBA-2e-R: taa-ccg-gct-ctt-tcg-gac-tc. При подборе праймеров для амплификации исследуемого участка гена *FSHR*, *INHBA* использовалась референсная последовательность генома домашней собаки (*Canis familiaris*) из международной базы генетических данных NCBI. Подбор праймеров осуществлялся с помощью приложения Primer-BLAST интегрированного в NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Амплификация проводилась на термоблокере C-1000 (BioRad) в реакционной смеси объемом 10 мкл, состоящей из 2 мкл 5х буфера для Taq (с содержанием 15Мм Mg²⁺), 1,2 мкл смеси dNTP (2,5 мМ), 0,2 мкл каждого из праймеров, 0,2 мкл Taq-полимеразы («Сибэнзим», Ново-

сибирск), а также 0,2 мкл выделенной ДНК и 6 мкл деионизированной воды. После амплификации оценивали качество полученных фрагментов с помощью электрофореза в 2% агарозном геле, а также проводили их ферментативную очистку с помощью набора реагентов Echo-SAP IT (ThermoFisher, USA). Секвенирование амплифицированных фрагментов осуществляли с использованием технологии нанопорового секвенирования на приборе MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Для приготовления библиотек ДНК применяли набор «Rapid Sequencing Kit. Последовательности прочтений определяли с помощью программы MinKNOW (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Выравнивание прочтений секвенатора на референсную последовательность осуществляли с помощью программы Minimap2 (v.2.24). Определение вариантов производилось с применением программы longshot (v. 1.0.0), минимальное покрытие для SNP составляло 500 прочтений.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Нами были секвенированы 9 и 10 участков экзона гена *FSHR*. И на субъединице бета А ингибина 2 экзон гена *INHBA*. Бы-

ли обнаружены однонуклеотидные полиморфизмы. Такие изменения могут приводить к изменению аминокислотного состава полипептида, что, в свою очередь, может повлечь за собой нарушения пространственной третичной и четвертичной структур белка, что является критичным для белка-рецептора, в данном случае рецептора фолликулостимулирующего гормона, который взаимодействует с ФСГ по принципу «ключ-замок». Нарушение пространственно-структурного соответствия рецептора и действующего вещества может приводить снижению эффекта работы полового гормона, что в свою очередь значительно повлияет на репродуктивную функцию [8-10].

Данные по частоте встречаемости генотипов и аллелей гена *INHBA* представлены в таблице 1. При анализе распределения частот генотипов было выявлено сильное смещение в сторону диких генотипов. Особенно это выражено для локуса 10826 (94 % генотипа GG). По локусу 10529 наблюдалась примерно одинаковая частота генотипов СТ и ТТ (17,3 и 13,7% соответственно). В локусе 10529 преобладали аллели С (0,76), а в локусе 10826 аллели G (0,98).

Таблица 1 – Частота встречаемости генотипов и аллелей по двум SNP гена *INHBA* у собак

Генотип	n	Наблюдаемая частота генотипов, %	Частота аллелей
INHBA локус 10529 (CC – дикий генотип)			
CC	20	68,9	C – 0,76 T – 0,24
CT	5	17,3	
TT	4	13,7	
INHBA локус 10826 (GG – дикий генотип)			
GG	30	94	G – 0,98 A – 0,02
AG	1	6	
AA	0	0	

Данные по частоте встречаемости генотипов и аллелей гена *FSHR* представлены в таблице 2. Из данных таблицы видно, что почти по всем найденным SNP наблюдается смещение к ди-

ким генотипам, частота встречаемости от 96 до 100%. Исключение составил локус 162102, в котором было 40 % дикого генотипа CC, 40% гетерозигот СТ и 20% гомозигот ТТ.

Таблица 2 – Частота встречаемости генотипов и аллелей по 8 SNP гена *FSHR* у собак

Генотип	n	Наблюдаемая частота генотипов, %	Частота аллелей
FSHR локус 161722 (GG – дикий генотип)			
GG	33	100	1
FSHR локус 161917 (GG – дикий генотип)			
GG	33	100	1
FSHR локус 162102 (CC – дикий генотип)			
CC	12	40	C – 0,6 T – 0,4
CT	12	40	
TT	6	20	
FSHR локус 162295 (CC – дикий генотип)			
CC	32	100	1
FSHR локус 166566 (CC – дикий генотип)			
CC	24	96	C – 0,98 T – 0,02
CT	1	4	
TT	0	0	
FSHR локус 166783 (GG – дикий генотип)			
GG	24	96	G – 0,98 A – 0,02
AG	1	4	
AA	0	0	
FSHR локус 167443 (GG – дикий генотип)			
GG	24	96	G – 0,98 A – 0,02
AG	1	4	
AA	0	0	
FSHR локус 167550 (GG – дикий генотип)			
GG	21	96	G – 0,98 A – 0,02
AG	1	4	
AA	0	0	

Несмотря на большое фенотипическое разнообразие собак с разной массой тела (от 3 до 80 кг), разным шерстяным покровом (гладкошерстные и длинношерстные), разного назначения пород (декоративные, компаньоны, сторожевые, охотничьи и служебные) частота диких генотипов всех найденных SNP преобладала. Можно предположить, что это связано с отсутствием отбора по репродуктивным показателям, так как селекция в собаководстве в основном направлена на внешний вид и рабочие качества.

Мы планируем продолжить изучение возможных ассоциаций однонуклеотидных замен в найденных SNP генов *FSHR*

и *INHBA* с перспективными репродуктивными показателями, например, такими как качество и криорезистентность спермы. Выявленные ассоциации в дальнейшем могут быть использованы в селекции линий производителей с генетически устойчивым качеством эякулята и способностью к замораживанию и оплодотворяющей способностью.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Нами были описаны новые, не встречавшийся ранее в литературе полиморфизмы в участках генов *FSHR* и *INHBA* у собак. Как видно из полученных данных, наблюдается различная частота мутаций в исследуемых генах. В гене *FSHR* локусах

161722, 162295, 161917 – не было выявлено мутаций у исследованной выборки кобелей, что, возможно, делает неперспективным исследование этих локусов.

Дальнейшие исследования будут перспективны с привлечением большего поголовья кобелей и анализе корреляции качественных и количественных показателей эякулятов относительно полученных данных в этом исследовании

FSHR AND INHBA GENES POLYMORPHISM IN DOGS OF VARIOUS BREEDS.

Bogdanova S.S.¹ – Junior Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0009-0007-9411-9887), **Krutikova A.A.**¹ * – PhD of Biological Sciences, Ass. Prof. of Dep. of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0000-0003-2561-145X), **Nikitkina E.V.**¹ – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-8496-5277), **Ryabova A.E.**¹ Graduate student, junior researcher lab. molecular genetics (ORCID 0000-0003-2362-2892), **Musidray A.A.**³ – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Animal Husbandry and Environmental Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-0079-9938), Department of Animal Husbandry and Environmental Management of the Arctic, **Plemyashov K.V.**³ – Professor, Doctor of Veterinary Sciences, Corr. RAS, head.department obstetrics and operative surgery (ORCID 0000-0002-3658-5886), St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, **Volkov K.S.**⁴ – Veterinarian of VKS LLC (ORCID 0009-0005-7988-528X), **Anipchenko P.S.**⁵ – PhD Student at University of Perugia (ORCID 0000-0001-8871-550X)

¹Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry

² St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences

³ St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

⁴ VKS LLC

⁵ University of Perugia

* anntim2575@mail.ru

Financing: The work was carried out as part of the scientific research of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on topic No. 124020200127-7.

ABSTRACT

As the amount of data on genomic variations increases, tools capable of assessing the functional impact of individual nucleotide sequences are becoming more relevant. There are several prediction servers available to interpret the effects of variants in the human genome, but few have been developed for other species, and none have been specifically designed for species of interest to veterinary medicine, such as dogs. [1] Mammalian glycopeptide hormone receptors are key regulators of reproductive development, and their homologues are widespread in the animal kingdom.[2]. The interest of our research group is aimed at finding gene variations promising for further research of associations in the field of dog reproduction. In this regard, a group of genes has been selected that potentially affect the sperm quality of males. Based on the GeneCards® human gene database, the following genes were selected: the INHBA (Inhibin subunit Beta A) gene, associated with the activation and inhibition of follicle-stimulating hormone by the pituitary gland, a protein encoded by this gene plays an important role in the development of eyes, teeth, and testicles [11], as well as the FSHR (follicle stimulating hormone receptor) gene. The protein encoded by this gene belongs to the G protein-coupled receptor family 1. It is a receptor for follicle-stimulating hormone and is involved in the development of the sex glands [11]. Mutations in this gene cause type 1 ovarian dysgenesis, as well as ovarian hyperstimulation syndrome in humans [11]. We hypothesized that the INHBA and FSHR genes may affect the quality of ejaculate in males. Studies in the field of INHBA and FSHR gene polymorphisms, which were

included in this study, were previously conducted on sheep [3] and bulls [4].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Capriotti E. Fido-SNP: the first webserver for scoring the impact of single nucleotide variants in the dog genome / E. Capriotti, L. Montanucci, G. Profiti, I. Rossi, D. Giannuzzi, L. Aresu, P. Fariselli // *Nucleic Acids Res.* – 2019. - W136-W141. doi: 10.1093/nar/gkz420
2. Cho S. The C. elegans glycopeptide hormone receptor ortholog, FSHR-1, regulates germline differentiation and survival / S. Cho, K. Rogers, D. // *Fay . Curr Biol.* – 2007. - W203-W212. doi: 10.1016/j.cub.2006.12.027
3. Zilaitiene B. The impact of FSH receptor polymorphism on time-to-pregnancy: a cross-sectional single-centre study. / B. Zilaitiene, M. Dirzauskas, R. Verkauskiene // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2018.- W272 doi: 10.1186/s12884-018-1910-2
4. Nikitkina E. Search for Associations of FSHR, INHA, INHAB, PRL, TNP2 and SPEF2 Genes Polymorphisms with Semen Quality in Russian Holstein Bulls (Pilot Study) / E. Nikitkina, A. Krutikova, A. Musidray, K. Plemyashov // *Animals.* – 2021.- Oct 2;11(10)- W2882. doi: 10.3390/ani11102882
5. Abah K. Effect of male age on semen quality in domestic animals: potential for advanced functional and translational research / K. Abah, A. Fontbonne, A. Partyka , W. Nizanski // *Vet Res Commun.* – 2023.- Sep;47(3) - W1125-W1137. doi: 10.1007/s11259-023-10159-1
6. Hallberg I. Endocrine and dog factors associated with semen quality / I. Hallberg, H. Olsson, H. Lau , S. Wallander, A. Snell, D. Bergman, B. Holst // *Sci Rep.* – 2024.- Jan 6;14(1)- W718. doi: 10.1038/s41598-024-51242-0
7. Domrazek K. The Impact of Microorganisms on Canine Semen Quality / K. Domrazek, P. Konieczny, M. Majka, M. Czopowicz, P. Jurka // *Animals (Basel).* – 2024.- Apr 23;14(9)- W1267. doi: 10.3390/ani14091267
8. Bhartiya D. An overview of FSH-FSHR

- biology and explaining the existing conditions / D. Bhartiya, H. Patel // *Journal of ovarian research.* – 2021.- 14(1)- W144. doi: 10.1186/s13048-021-00880-3
9. Abeygunawardana D. Effect of LHCGR and FSHR gene polymorphisms on fertility traits and milk yield of cross-bred dairy cows in Sri Lanka / D. Abeygunawardana, R. Ranasinghe, S. De Silva, P. Deshapriya, Gamika, J. Rajapakse // *Anim Biotechnol.* – 2023.- Nov;34(5)- W1719-W1726. doi: 10.1080/10495398.2022.2044346
10. Sharifiyazdi H. Characterization of polymorphism in the FSH receptor gene and its impact on somereproductive indices in dairy cows / H. Sharifiyazdi, A. Mirzaei, Z. Ghaanaatian // *Anim Reprod Sci.* – 2018.- Jan;188- W45-W50. doi: 10.1016/j.anireprosci.2017.11.006
11. GeneCards the human gene database [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.genecards.org> , свободный — (22.04.2025г)
12. Выделение ДНК теоретические основы [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://vniigen.ru/wp-content/uploads/2023/07/%D0%A0%D1%8F%D0%B1%D0%BE%D0%B2%D0%B0-%D0%90.%D0%95> , свободный — (22.04.2025г)

REFERENCES

1. Capriotti E. Fido-SNP: the first webserver for scoring the impact of single nucleotide variants in the dog genome / E. Capriotti, L. Montanucci, G. Profiti, I. Rossi, D. Giannuzzi, L. Aresu, P. Fariselli // *Nucleic Acids Res.* – 2019. - W136-W141. doi: 10.1093/nar/gkz420
2. Cho S. The C. elegans glycopeptide hormone receptor ortholog, FSHR-1, regulates germline differentiation and survival / S. Cho, K. Rogers, D. // *Fay . Curr Biol.* – 2007. - W203-W212. doi: 10.1016/j.cub.2006.12.027
3. Zilaitiene B. The impact of FSH receptor polymorphism on time-to-pregnancy: a cross-sectional single-centre study. / B. Zilaitiene, M. Dirzauskas, R. Verkauskiene // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2018.- W272 doi: 10.1186/s12884-018-1910-2
4. Nikitkina E. Search for Associations of

- FSHR, INHA, INHAB, PRL, TNP2 and SPEF2 Genes Polymorphisms with Semen Quality in Russian Holstein Bulls (Pilot Study) / E. Nikitkina, A. Krutikova, A. Musidray, K. Plemyashov // *Animals*. – 2021.- Oct 2;11(10)- W2882. doi: 10.3390/ani11102882
5. Abah K. Effect of male age on semen quality in domestic animals: potential for advanced functional and translational research / K. Abah, A. Fontbonne, A. Partyka, W. Nizanski // *Vet Res Commun*. – 2023.- Sep;47(3) - W1125-W1137. doi: 10.1007/s11259-023-10159-1
6. Hallberg I. Endocrine and dog factors associated with semen quality / I. Hallberg, H. Olsson, H. Lau, S. Wallander, A. Snell, D. Bergman, B. Holst // *Sci Rep*. – 2024.- Jan 6;14(1)- W718. doi: 10.1038/s41598-024-51242-0
7. Domrazek K. The Impact of Microorganisms on Canine Semen Quality / K. Domrazek, P. Konieczny, M. Majka, M. Czopowicz, P. Jurka // *Animals (Basel)*. – 2024.- Apr 23;14(9)- W1267. doi: 10.3390/ani14091267
8. Bhartiya D. An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing contradictions / D. Bhartiya, H. Patel // *Journal of ovarian research*. – 2021.- 14(1)- W144. doi: 10.1186/s13048-021-00880-3
9. Abeygunawardana D. Effect of LHCGR and FSHR gene polymorphisms on fertility traits and milk yield of cross-bred dairy cows in Sri Lanka / D. Abeygunawardana, R. Ranasinghe, S. De Silva, P. Deshapriya, Gamika, J. Rajapakse // *Anim Biotechnol*. – 2023.- Nov;34(5)- W1719-W1726. doi: 10.1080/10495398.2022.2044346
10. Sharifiyazdi H. Characterization of polymorphism in the FSH receptor gene and its impact on somereproductive indices in dairy cows / H. Sharifiyazdi, A. Mirzaei, Z. Ghanaatian // *Anim Reprod Sci*. – 2018.- Jan;188- W45-W50. doi: 10.1016/j.anireprosci.2017.11.006
11. GeneCards the human gene database [Electronic resource]. — Access mode: <https://www.genecards.org>, free — (04/22/2025)
12. DNA isolation theoretical foundations [Electronic resource]. — Access mode: <https://vniigen.ru/wp-content/uploads/2023/07/%D0%A0%D1%8F%D0%B1%D0%BE%D0%B2%D0%B0-%D0%90.%D0%95>, free — (04/22/2025)

УДК: 636.1.082.4:576.371

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.328

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ БИОХИМИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ И СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ И КРОВИ КОБЫЛ В ВЕСЕННЕМ ПЕРЕХОДНОМ ПЕРИОДЕ И В СЛУЧНОМ СЕЗОНЕ

Калашников В.В. – акад. РАН, д-р с.-х. наук, проф., научный руководитель (ORCID 0000-0001-9845-1691); Лебедева Л.Ф. * – д-р с.-х. наук, доц., зав. лаб. физиологии (ORCID 0000-0001-6960-5233); Солодова Е.В. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3495-3478); Сакаев В.А. – мл. науч. сотр.; Бородкина Е.Ю. – канд. биол. наук, науч. сотр.; Дубровская А.Б. – канд. с.-х. наук, науч. сотр.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства»

*lebedeva-L18@yandex.ru

Ключевые слова: сыворотка крови, фолликулярная жидкость, ОПУ, биохимический анализ, стероидные гормоны, качество ооцитов.

Key words: blood serum, follicular fluid, OPU, biochemical analysis, steroid hormones, oocyte quality.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках конкурса Российского научного фонда 2022 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами» (Проект № 23-16-00226).

Поступила: 03.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Фолликулярная жидкость (ФЖ) является естественной средой для созревания ооцитов и может быть использована для этих целей в условиях *in vitro*. Однако в связи с сезонностью размножения лошадей, часть фолликулов в весенний переходный период претерпевает лютеинизацию или регрессию, что при круглогодичном использовании кобыл в программах ВРТ может быть связано с качеством ооцитов. С целью поиска диагностических критериев отбора ФЖ для созревания *in vitro* и прогноза качества ооцитов кобыл проводили сравнение между биохимическим и гормональным составом ФЖ в весеннем переходном периоде (группа I, в т.ч. из нормальных (Ia) и лютеинизирующихся (Iб) фолликулов) и ФЖ из крупных эстральных фолликулов циклирующих кобыл в случном сезоне (группа II), а также в сыворотке крови (группа III). Анализ содержания биохимических компонентов и стероидных гормонов показал отсутствие количественных различий по большинству компонентов в подгруппах Ia и Ib, за исключением общего белка ($p=0,048$) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) ($p=0,013$). Достоверные различия в содержании сывороточного железа ($p=0,019$) и фосфора ($p=0,005$) были выявлены в ФЖ, полученной от кобыл в весенний переходный период и в сезон половой активности. Концентрация тестостерона, дигидротестостерона и прогестерона значительно (в 2-4 раза) увеличивалась в ФЖ эстральных фолликулов в

случном сезоне. Сделано заключение, что критерием выбора ФЖ для созревания ооцитов *in vitro* могут служить концентрации прогестерона, тестостерона и дигидротестостерона, с учётом содержания фосфора и сывороточного железа. Содержание прогестерона, дигидротестостерона, тестостерона должно быть не менее 100 нмоль/л, 1000 пг/мл, и 16 нмоль/л, а фосфора и сывороточного железа в пределах 0,74-1,1 и 46,4-57,0 ммоль/л, соответственно. Использование данных параметров ФЖ в качестве критериев позволит определить целесообразность её применения для созревания ооцитов *in vitro*.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в племенном коневодстве требует совершенствования сред для созревания ооцитов *in vitro*. Установлено, что лучшая компетентность для оплодотворения с помощью ЭКО и ИКСИ, а также дальнейшего развития эмбриона может быть достигнута повышением степени синхронности ядерного и цитоплазматического созревания ооцитов в преовуляторной фолликулярной жидкости [1]. Поэтому исследование её состава в крупных фолликулах кобыл имеет важное значение для определения возможности использования ФЖ в качестве среды (или добавки к среде) для созревания ооцитов *in vitro*. Изучение концентрации внутрифолликулярных стероидов в естественных циклах позволит лучше понять изменения и патологические нарушения при экзогенной стимуляции развивающегося фолликула и ооцита.

Во время нормального фолликулогенеза состав фолликулярной жидкости динамически изменяется, так как клетки стенки фолликула реагируют на гонадотропные гормоны путем секреции стероидных гормонов, факторов роста и цитокинов, которые, в свою очередь, влияют на развитие и функционирование как соматических клеток, так и ооцита [2]. Многочисленные исследования фолликулярной жидкости у различных видов животных показали, что в созревании, оплодотворении яйцеклеток, пролиферации и дифференцировке гранулёзных клеток, последующей овуляции и лютеинизации участвуют внутрифолликулярные стероидные гормоны, такие как 17β эстрадиол (Е2), прогестерон (Р4), андростендион (А4), тестостерон (Т). Они связаны с метаболической активностью клеток яични-

ков и отражают физиологическое состояние фолликула [3].

Однако лошади – это сезонно-полициклические животные, у которых различают активную (овуляторную) половую фазу, зимний период полового покоя (анэструс) и две переходные фазы между ними – весенний и осенний переходные периоды (фолликулогенез без овуляции). Между тем современные вспомогательные репродуктивные технологии на кобылах предполагают круглогодичное их использование для пунктирования фолликулов и получения ооцитов для оплодотворения *in vitro*. Поскольку в переходные периоды развивающиеся фолликулы не достигают овуляции, и в дальнейшем, как правило, происходит их лютеинизация или регрессия, получение фолликулярной жидкости из таких фолликулов и использование в циклах ВРТ может негативно сказаться на уровне созревания ооцитов.

На протяжении среднего и позднего переходного периода происходит образование и развитие нескольких фолликулярных волн с 10-12 дневными промежутками. Самые большие фолликулы достигают диаметра 30 мм и более [4]. При этом концентрация эстрадиола на протяжении большей части всего переходного периода в периферической плазме остаётся низкой и поднимается всего за несколько дней до первой овуляции в году. Это связано с недостаточным количеством стероидобразующих ферментов в ткани фолликулов первой и второй волны. Хотя в переходный период фолликулы и достигают 30 мм в диаметре, растут они значительно медленнее овуляторных и являются менее васкуляризированными. Уровень лютеинизирующего гормона (ЛГ) остаётся низким на протяжении большей части переходного периода. Таким образом, разви-

тие фолликулов происходит в среде, богатой фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ), но бедной ЛГ. Это приводит к повторному развитию крупных ановуляторных стероидогенно некомпетентных фолликулов и обуславливает длительные беспорядочные периоды проявления охоты [5]. По мере приближения первой в году овуляции происходит снижение секреции ФСГ, вследствие увеличения выработки ингибирующих факторов (эстрадиола и ингибина) крупными фолликулами. Повышение концентраций плазменного и фолликулярного эстрадиола положительно влияет на стимуляцию секреции ЛГ. Однако исследования, проведенные на овариоэктомизированных и интактных кобылах, не подтвердили предположение, что подъём фолликулярных эстрогенов является стимулом для синтеза гипофизарного ЛГ [6].

Развитие фолликулов и овуляторные процессы у млекопитающих сопровождаются локальными биохимическими изменениями, которые происходят в результате существенных сдвигов в клеточном метаболизме. Изучение внутрифолликулярных изменений в ФЖ методом протонно-ядерно-магнитного резонанса (HNMR) показало, что содержание аланина и липопротеидов (группы СНЗ) снижалось в доминантных фолликулах по мере их роста, тогда как концентрации гормонов прогестерона и эстрадиола значительно возрастали. После инъекции гонадотропина для индукции овуляции, фолликулярное созревание характеризовалось уменьшением содержания гликоконъюгатов, триметиламинов и ацетата, также наблюдалось снижение концентрации эстрадиола и дальнейшее увеличение СНЗ-групп липопротеинов и прогестерона. Показана четкая корреляция между внутрифолликулярным содержанием аланина и эстрадиола, отмечена корреляция между прогестероном и гликоконъюгатами [7]. Было также продемонстрировано, что концентрация липопротеинов была выше в сыворотке крови, чем в фолликулярной жидкости [8].

Применение ФЖ для созревания

ооцитов в программах ВРТ предполагает определение её качества. Логично было бы заготавливать и использовать ФЖ из преовуляторного фолликула. Однако по размерам фолликула, его консистенции, особенно в весеннем переходном периоде, не всегда можно прогнозировать будущую овуляцию. Даже первая охота, при всех признаках эструса может закончиться лютеинизацией фолликула или его регрессией. Синдром лютеинизации неовулировавшего фолликула (ЛНФ-синдром) – это преждевременная лютеинизация предовуляторного фолликула без овуляции. При заборе ФЖ из таких фолликулов до начала процесса лютеинизации можно ошибиться в прогнозе ее качества для созревания ооцитов. Поэтому предварительное исследование биохимического и гормонального состава перед применением позволит принять правильное решение по использованию ФЖ кобыл в циклах ВРТ. Однако, определение содержания ФСГ и ЛГ, влияющих на созревание ооцита, в настоящее время в российских медицинских и ветеринарных лабораториях проблематично в связи с их видоспецифичностью. Самыми доступными методами и распространёнными видами исследований являются ИФА (иммуноферментный анализ) и ИХЛА (иммунохемилюминесцентный анализ).

С целью определения оптимальных характеристик ФЖ, предназначенной для созревания ооцитов *in vitro*, и поиска маркеров полноценности эстральных фолликулов в сезон половой цикличности мы поставили перед собой следующие задачи: сравнить значения биохимических компонентов и концентрацию стероидных гормонов в ФЖ из крупных (доминантных) фолликулов, в том числе лютеинизирующихся, в весеннем переходном периоде с соответствующими показателями ФЖ из крупных эстральных фолликулов в нормальных половых циклах кобыл в сезон размножения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование содержания биохимических и гормональных компонентов ФЖ

проводилось от двух групп фолликулов, аспирированных из яичников кобыл в весенний переходный период (группа I) и в случном сезоне (группа II). Первая группа состояла из двух подгрупп: I а – крупные фолликулы без признаков лютеинизации (n=7); I б – крупные фолликулы с признаками лютеинизации (многочисленные экзогенные вкрапления внутри фолликула, обнаруживаемые во время УЗИ) (n=7). Группа II включала ФЖ из лидирующих фолликулов у нормально циклирующих кобыл в период естественного эструса без предварительных гормональных обработок (n=12). У всех кобыл с переходными фолликулами без признаков лютеинизации взять образцы крови не удалось, поэтому сравнение биохимического и гормонального состава крови было проведено только между Iб подгруппой и II группой.

Забор ФЖ проводили у 11 кобыл помесных верховых, тяжеловозных и вятской пород от 4 до 16 лет в весеннем переходном периоде и в период сезона половой цикличности. Все кобылы принадлежали экспериментальной конюшне ФГБНУ ВНИИ коневодства. Содержание и кормление животных соответствовало принятым зоотехническим и ветеринарным нормам. Развитие фолликулов контролировали с помощью УЗ-сканера Eхago (Франция). ФЖ извлекали из фолликулов диаметром ≥ 35 мм методом трансвагинальной аспирации фолликулярной жидкости под ультразвуковым контролем (OPU). Перед каждой процедурой проводили забор крови у кобыл из яремной вены, отстаивали в течение 30 минут и центрифугировали в режиме 3000 об/мин в течение 15 минут, после чего сыворотку замораживали.

Кобыл к процедуре OPU готовили с помощью седации детомидином гидрохлоридом (0,2 - 0,5 мг, внутривенно, три раза или более в течение процедуры, по мере необходимости) и ксилазина гидрохлорида (7-10 мл на животное). После первой инъекции домоседана проводили эпидуральную анестезию 2% лидокаином (7 мл). За 15 минут до начала процедуры

вводили флюнексин меглумин (300-500 мг). После процедуры - антибиотик ветбицин-3 (10 000 – 15 000 ЕД на 1 кг массы животного) и эмиданол 10% (5-10 мл) и этамзилат (125 мг/мл, 10-20 мл). Опыты с использованием экспериментальных животных (кобыл) были одобрены комиссией по этике, созданной при ФГБНУ ВНИИ коневодства (Протокол № 8-23 от 28.11.2023 г.).

ФЖ извлекали в процессе OPU с помощью вакуумной помпы COOK Medical K-MAR-5200. Фолликулы аспирировали, используя двухпросветные иглы 12G, которые вводили через специальный эндовагинальный зонд ультразвукового аппарата Eхago. ФЖ из каждого фолликула собирали в отдельный флакон объемом 50 мл через индивидуальную иглу с трубкой, после чего ФЖ центрифугировали в режиме 3000 об/мин в течение 20 минут, разделяли на аликвоты в пробирки эпиндорфа по 2-5 мл, замораживали и хранили при -20°C .

Биохимический анализ крови и фолликулярной жидкости проводили на биохимическом анализаторе Stat Fax 1904+ (Производитель: Awareness technology). Исследования проводились с использованием оборудования ЦКП «Коллекция генетических ресурсов» ФГБНУ «ВНИИ коневодства».

Определение уровней гормонов в ФЖ и сыворотке крови проводили в лаборатории ООО «Центр Здоровья» с помощью автоматизированных иммунохимических анализаторов Immulite 2000XPr (компания Siemens) и Access 2 (компания Beckman Coulter). Определяли концентрацию прогестерона, тестостерона, эстрадиола. Анализ на дигидротестостерон (ДГТ) был выполнен ручным методом с помощью тест-системы для количественного определения дигидротестостерона в сыворотке методом твердофазного иммуноферментного анализа, основанном на принципе конкурентного связывания (производитель «ДРГ-техсистемс»). Результаты получали с помощью полуавтоматического ИФА анализатора «Мультискан» (производитель Thermo

Scientific).

Аналитическая чувствительность методов при определении составляла: прогестерона 0,3 nmol/l, тестостерона - 0,5 нмоль/л, эстрадиола - 55 пмоль/л; дигидротестостерона 6 пг/мл.

Статистическую обработку материала проводили с помощью программы Statistica 12, с использованием критерия Манна-Уитни и коэффициента корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Сравнение биохимических показателей ФЖ, полученной от кобыл в разные сезоны половой активности, показало наличие достоверных различий только по содержанию сывороточного железа и фосфора. Значительно и достоверно выше ($p \leq 0,001$) в фолликулярной жидкости эстральных фолликулов в период половой цикличности оказались уровни тестостерона, дигидротестостерона и прогестерона (Таблица 1).

Анализ содержания биохимических показателей в подгруппах Ia и Ib показал отсутствие количественных различий по большинству компонентов. Достоверные различия найдены только по содержанию общего белка и АЛТ, уменьшение концентрации которых в фолликулах, начавшихся лютеинизироваться, может говорить о снижении кровоснабжения такого фолликула и уменьшении проницаемости окружающих его сосудов. Это подтверждается достоверной разницей в содержании АЛТ в ФЖ подгруппы Ib и группы II (Таблица 2).

Тесная положительная корреляция содержания АЛТ в крови и ФЖ во II группе и отсутствие таковой в подгруппе Ib (Рис. 1) подтверждает данный вывод. Однако полученные показатели не могут служить критерием отнесения фолликулов к той или другой группе, так как они могут изменяться при различных патологических процессах в организме животного.

При сравнении Ia и Ib подгрупп со II группой ожидаемо оказалось, что наибольшие и достоверные различия наблюдаются в содержании стероидных

гормонов: тестостерона, дигидротестостерона и прогестерона, которых, в среднем, в 3,25; 1,9 и 4,1 раза, соответственно, больше в эстральных фолликулах II группы, чем первой. Кроме того, ФЖ лютеинизирующихся фолликулов (Ib подгруппа) содержит достоверно больше сывороточного железа и фосфора, меньше АЛТ и липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), чем ФЖ эстральных фолликулов циклирующих кобыл (II группа). Данные различия говорят о большей интенсивности процессов стероидогенеза в гранулёзных клетках стенки овуляторных фолликулов и большей их потребности в таких элементах, как фосфор и железо. Различия в содержании биохимических компонентов между не лютеинизирующимися крупными переходными фолликулами (Ia подгруппа) и крупными лидирующими фолликулами циклирующих кобыл (II группа) найдены только по фосфору и сывороточному железу, которых также меньше во II группе. Однако уровни достоверности достигает разница только по фосфору.

Выяснилось, что в связи с небольшой концентрацией прогестерона, тестостерона и эстрадиола в сыворотке крови и ограниченным диапазоном их определения методами ИХЛА, определить коэффициенты корреляции между фолликулярной жидкостью и сывороткой крови невозможно. На диаграмме (рис. 1) представлены коэффициенты корреляции биохимических элементов между фолликулярной жидкостью и сывороткой крови в Ib подгруппе и II группе.

Достоверная, очень тесная связь обнаружена в сыворотке крови и ФЖ между 19 из 26 элементов II группы, и лишь между 6 из 26 элементов Ib подгруппы. Наши данные говорят о значительном различии в степени васкуляризации и проницаемости стенки овуляторного и лютеинизирующегося фолликула.

Анализ биохимических показателей сыворотки крови в Ib подгруппе и II группе показал достоверные различия между калием, фосфором и уровнем аспартатаминотрансферазы (АСТ) (Таблица 3). Так,

в сыворотке крови кобыл с преовуляторным фолликулом в сезон нормальной половой цикличности наблюдается большее содержание калия и меньшее – фосфора и АСТ, чем у кобыл с лютеинизирующими фолликулами в переходный период. Однако в связи с отсутствием достоверной корреляции между концентрацией

калия в сыворотке крови и фолликулярной жидкости, а также высоким коэффициентом вариации уровня фосфора (более 26-27%) в крови судить о содержании данных элементов в фолликулярной жидкости по содержанию их в сыворотке крови не представляется возможным.

Таблица 1 – Значения биохимических и гормональных показателей фолликулярной жидкости, полученной из фолликулов кобыл в весенний переходный период (группа I) и в эстральной фазе нормального полового цикла (группа II)

Показатели	Ед.изм.	Группы фолликулов						p-value
		I			II			
		n	median	Lower - Upper Quartil	n	median	Lower -Upper Quartil	
Сыв.железо	ммоль/л	14	61,3	58,2-64,0	11	51,73	46,4-57,0	0,019*
Фосфор	ммоль/л	14	1,3	1,02-1,46	11	0,9	0,74-1,1	0,005*
Калий	ммоль/л	14	3,74	3,5-4,1	12	3,8	3,5-4,1	0,95
Кальций	ммоль/л	14	2,8	2,6-2,9	12	2,7	2,5-3,1	0,94
Натрий	ммоль/л	14	144,0	142,0-146,0	12	142	142-144	0,2
Магний	ммоль/л	13	0,8	0,77- 0,82	11	0,8	0,73-0,89	0,47
Глюкоза	ммоль/л	13	4,9	4,68-5,19	12	5,12	4,8-5,45	0,58
О.белок	г/л	14	51,5	49-56	12	53,5	47-58	0,86
Мочевина	ммоль/л	10	2,7	2,7-2,8	11	2,7	2,56-2,9	0,67
Моч.кислота	мкмоль/л	11	11,0	10,0-12,0	12	9	8-17,5	0,8
Креатинин	мкмоль/л	14	83,0	78,0-86,0	12	88,5	80-98,5	0,26
Альбумин	г/л	14	27,0	26,0-30,0	12	29,5	27-32,5	0,09
а-амилаза	Е/л	14	4,5	4-6,0	12	2	0-5	0,08
Холестерин	ммоль/л	14	1,25	1,09-1,5	12	1,25	1,06-1,52	0,9
Триглицериды	ммоль/л	13	0,1	0,03-0,16	11	0,07	0,03-0,15	0,66
ХС ЛПВП	ммоль/л	14	1,1	1,0-1,4	12	1,1	1,95-1,3	0,74
ХС ЛПНП	ммоль/л	14	0,06	0,01-0,16	11	0,17	0,06-0,29	0,05
АСТ	Е/л	11	260	210-280	11	190,0	160-270	0,1
КФК	Е/л	14	37	29-60	12	39	29-71	0,92
АЛТ	Е/л	14	5	4-8	12	6	6-7	0,18
ЛДГ	Е/л	14	458	353-530	12	377,5	300,5-553,0	0,38
ГГТП	Е/л	14	8,5	6,0-10,0	11	9	6-12	0,52
ЩФ	Е/л	14	122,5	114-158	12	137	118-161	0,64
Билирубин прям	мкмоль/л	14	2,1	2,01-3,12	12	2,2	2,12-4,2	0,17
Билирубин непр.	мкмоль/л	14	10,4	7,87-18,5	12	8,7	8,29-14,5	0,77
Эстрадиол	пмоль/л	15	14023,2	6897,7-18637,5	12	19856,8	16341,2-19856,8	0,06
Тестостерон	нмоль/л	13	21,15	0,81-6,83	12	18,5	16,5-23,8	0,0002*
Дигидротестостерон	пг/мл	15	945	602-1313	12	1805	1643,5-2194	0,001*
Прогестерон	нмоль/л	15	24,9	9,86-40,7	12	127	111,5-127	0,0001*

Примечание: * разность значений достоверна, при $p < 0,05$.

Таблица 2 – Биохимические и гормональные показатели в фолликулярной жидкости кобыл из трех групп фолликулов (≥ 35 мм), имеющие достоверные

Показатели	Ед.изм.	Группы фолликулов											
		I a ¹			p-value	I б ²			II ³			p-value	
		n	median	Lower - Upper Quartil		n	median	Lower - Upper Quartil	n	median	Lower - Upper Quartil	Ia-II	Iб-II
О.белок	г/л	7	56	51-59	0,048*	7	50	48-53	12	53,5	47-58,5	0,52	0,33
Сыв.железо	ммоль/л	7	60,8	52,7-62,7	0,37	7	61,99	58,8-72,2	11	51,7	46,4-56,0	0,1	0,03*
Фосфор	ммоль/л	7	1,3	1,02-1,55	1,0	7	1,34	0,92-1,46	11	0,9	0,74-1,1	0,02*	0,02*
АЛТ	Е/л	7	8	6-8	0,013*	7	4,0	4-5	11	6	6-7	0,25	0,0007*
ХСЛПНП	ммоль/л	7	0,08	0,01-0,16	0,37	7	0,03	0,01-0,15	11	0,17	0,06-0,29	0,31	0,04*
Тестостерон	нмоль/л	7	5,69	1,7-12,6	0,13	6	0,76	0,69-2,82	12	18,5	16,5-23,8	0,001*	0,004*
ДГТ	пг/мл	7	945	602-1313	0,95	8	917,5	525-1435,5	12	1805	1643,5-2194	0,003*	0,015*
Прогестерон	нмоль/л	7	30,8	14,5-52,2	0,18	8	15,7	8,7-28,6	12	127	111,5-127	0,006*	0,0003*

Примечание: * разность значений достоверна, при $p < 0,05$, ¹ фолликулы в весенний переходный период без признаков лютеинизации; ² фолликулы в весенний переходный период с признаками лютеинизации; ³ фолликулы у нормально циклирующих

Таблица 3 – Значения биохимических показателей калия, фосфора и АСТ в сыворотке крови кобыл при наличии крупных фолликулов Iб подгруппы и II группы

Показатели	Ед.изм.	Группы фолликулов								p-value
		I б				II				
		Lower - Upper Quartil		n	Lower - Upper Quartil		n	Lower - Upper Quartil		
		median			median			median		
Калий	ммоль/л	7	2,95	2,84-3,33	12	3,47		3,16-3,67	0,038*	
Фосфор	ммоль/л	7	1,21	0,76-1,43	11	0,87		0,47-0,91	0,037*	
АСТ	Е/л	7	360	330-420	10	225		170-290	0,014*	

Примечание: * разность значений достоверна, при $p < 0,05$.

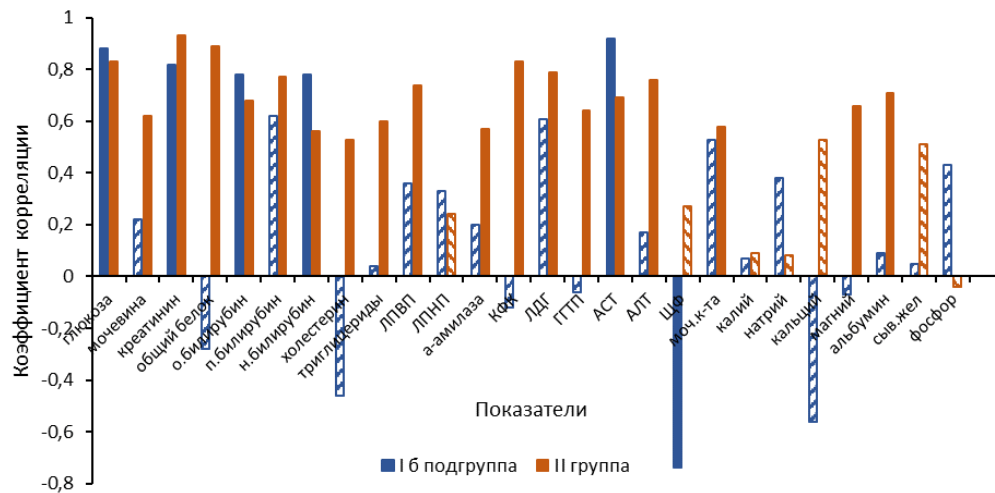


Рисунок 1 – Корреляция между компонентами фолликулярной жидкости и сыворотки крови кобыл в крупных фолликулах весеннего переходного периода с признаками лютеинизации (подгруппа Iб) и овуляторных фолликулах эстральной фазы нормального полового цикла (группа II); столбцы диаграммы со сплошной заливкой - $p < 0,05$.

Повышенный уровень внутриклеточного фермента АСТ в сыворотке крови у кобыл с фолликулами подгруппы Iб и его высокая очень тесная корреляция с содержанием в ФЖ может подтверждать повреждение и лизис клеток стенки лютеинизирующегося фолликула, однако, в связи с неспецифичностью этого фермента диагностическим критерием он являться не может.

Таким образом, наши исследования показали, что достоверные различия между двумя группами фолликулов наблюдаются в концентрации стероидных гормонов – тестостерона, прогестерона и дигидротестостерона. Следует подчеркнуть, что в данном исследовании анализировали ФЖ из фолликулов в естественном цикле, без использования гормональной обработки кобыл.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Критерием выбора фолликулярной жидкости для созревания ооцитов *in vitro* может служить комплекс показателей концентрации прогестерона, тестостерона и дигидротестостерона, с учётом содержания фосфора и сывороточного железа. Содержание прогестерона, дигидротесто-

стерона, тестостерона в ФЖ должно быть не менее 100 нмоль/л, 1000 пг/мл и 16 нмоль/л, а фосфора и сывороточного железа – в пределах 0,74-1,1 и 46,4-57,0 ммоль/л, соответственно. Данные параметры фолликулярной жидкости позволят определить целесообразность её использования для созревания ооцитов *in vitro*.

COMPARATIVE STUDY OF CONCENTRATION OF BIOCHEMICAL COMPONENTS AND STEROID HORMONES IN FOLLICULAR FLUID AND BLOOD OF MARES IN THE SPRING TRANSITIONAL PERIOD AND IN THE ROUTE SEASON

Kalashnikov V.V. – acad. RAS, Doctor of Agricultural Sciences, prof., Scientific director of the Federal State Institute (ORCID 0000-0001-9845-1691); **Lebedeva L.F.** * – Doctor. Agricultural Sciences, Associate Professor, Head. Of the lab. Physiology (ORCID 0000-0001-6960-5233); **Solodova E.V.** – Candidate of Biol. Sciences, scientific co-workers (ORCID 0000-0003-3495-3478); **Sakaev V.A.** – ml. scientific co-workers; **Borodkina E.Yu.** – Ph.D. biol. sciences, scientific co-workers; **Du-**

brovskaya A.B. – Ph.D. agricultural sciences, scientific co-workers

The All-Russian Research Institute for Horse breeding

*Lebedeva-L18@yandex.ru

Financing: *The materials were prepared within the framework of the 2022 competition of the Russian Science Foundation "Conducting fundamental scientific research and exploratory scientific research by individual scientific groups" (Project No. 23-16-00226).*

ABSTRACT

Follicular fluid (FF) is a natural environment for oocyte maturation and can be used for these purposes in vitro. However, due to the seasonality of equine breeding, some follicles undergo luteinization or regression during the spring transition period, which can be directly related to oocyte quality in year-round use of mares in ART programs. In order to find diagnostic criteria for selecting FF for in vitro maturation and predicting the quality of mares' oocytes, a comparison was made between the biochemical and hormonal composition of FF in the spring transition period (group I, including normal (Ia) and luteinizing (Ib) follicles) and FF from large estrous follicles of cycling mares in the breeding season (group II), as well as in the blood serum (group III). Analysis of the content of biochemical components and steroid hormones in the FF showed no quantitative differences in most components in subgroups Ia and Ib, except for total protein ($p=0.048$) and alanine aminotransferase (ALT) ($p=0.013$). Significant differences in the content of serum iron ($p=0.019$) and phosphorus ($p=0.005$) were found in the FF obtained from mares in the spring transition period and in the season of sexual activity. The concentration of testosterone, dihydrotestosterone and progesterone significantly (2-4 times) increased in the FF of estrous follicles in the mating season. It was concluded that the concentrations of progesterone, testosterone and dihydrotestosterone, taking into account the content of phospho-

rus and serum iron, can serve as a criterion for selecting FF for oocyte maturation in vitro. The content of progesterone, dihydrotestosterone, testosterone should be at least 100 nmol/l, 1000 pg/ml, and 16 nmol/l, and phosphorus and serum iron content within 0.74-1.1 and 46.4-57.0 mmol/l, respectively. Using these parameters of follicular fluid as criteria will determine the feasibility of its use for oocyte maturation in vitro.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bøgh, I.B. Pure preovulatory follicular fluid promotes in vitro maturation of in vivo aspirated equine oocytes/ I. B. Bøgh, J. Bézard, G. Duchamp, M. Baltsen, N. Gérard, P. Daels, T. Greve// *Theriogenology*, 2002. -V.57(7).-P.1765-1779. doi: 10.1016/s0093-691x(02)00650-7.
2. Revelli, A. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics/ A. Revelli, L. Delle Piane, S. Casano, E. Molinari, M. Massobrio, P. Rinaudo// *J. Reprod Biol. Endocrinol.*, 2009. -V.7(40) doi: 10.1186/1477-7827-7-40.
3. Satué, K. Can the Presence of Ovarian Corpus Luteum Modify the Hormonal Composition of Follicular Fluid in Mares? / K. Satué, E. Fazio, P. Medica// *J. Animals*. -2020. -V.10(4), P.646 <https://doi.org/10.3390/ani10040646>
4. Watson, E.D. Concentrations of inhibin, progesterone and oestradiol in fluid from dominant and subordinate follicles from mares during spring transition and the breeding season. / E.D. Watson, R. Thomassen, M. Steele, M. Heald, R. Leask, N.P. Groome, S.C. Riley// *J. Anim. Reprod. Sci.* -2002. -Vol.74(1-2). -P.55-67. DOI:10.1016/s0378-4320(02)00170-7
5. Tucker, K.E. Does resumption of follicular estradiol synthesis during vernal transition in mares involve a shift in steroidogenic pathways./ K.E. Tucker, B.D. Cleaver, D.C. Sharp// *J. Biol. Reprod.* -1993. -Suppl.1. -P.519.
6. Sharp, D.C. Effects of steroid administration on luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in ovariectomized pony mares in the springtime: pituitary respon-

siveness to gonadotropin releasing hormone (GnRH), circulating gonadotropin concentrations, and pituitary gonadotropin content/ D.C.Sharp, W.R.Grubaugh, S.D.Davis, J.Weithenauer, C.J.Wilcox//J.Biol.Reprod.-1991.-Vol.44.-P.983–990. <https://doi.org/10.1095/biolreprod44.6.983>

7.Gérard N., Loiseau S., Duchamp G. and Seguin F. Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (1H NMR) / N. Gérard, S. Loiseau, G. Duchamp and F. Seguin//Reproduction (2002) 124, 241–248. DOI: 10.1530/rep.0.1240241

8.Le Goff D. Follicular fluid lipoproteins in the mare: evaluation of HDL transfer from plasma to follicular fluid / D Goff // Acta Biochimica et Biophysica Sinica . -1994.-P.1210 226–232. DOI: 10.1016/0005-2760(94)90125-2

REFERENCES

1. Bøgh, I.B. Pure preovulatory follicular fluid promotes in vitro maturation of in vivo aspirated equine oocytes/ I. B. Bøgh, J. Bézard, G. Duchamp, M. Baltsen, N. Gérard, P. Daels, T. Greve// Theriogenology, 2002 .-V.57(7).-P.1765-1779. doi: 10.1016/s0093-691x(02)00650-7.

2. Revelli, A. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics/ A. Revelli, L. Delle Piane1, S. Casano, E. Molinari, M. Massobrio, P.Rinaudo//J.Reprod Biol. Endocrinol, 2009.-V.7(40) doi: 10.1186/1477-7827-7-40.

3. Satué, K Can the Presence of Ovarian Corpus Luteum Modify the Hormonal Composition of Follicular Fluid in Mares? / K.Satué , E. Fazio, P.Medica// J.Animals.-2020.-V.10(4), P.646 <https://doi.org/10.3390/ani10040646>

4. 4. Watson, E.D. Concentrations of inhibin, progesterone and oestradiol in fluid from dominant and subordinate follicles from mares during spring transition and the breeding season. / E.D.Watson, R.Thomassen, M.Steele, M.Heald, R.Leask, N.P.Groome, S.C. Riley// J.Anim. Reprod. Sci.-2002.-Vol.74(1–2).-P.55–67.

DOI:10.1016/s0378-4320(02)00170-7

5. 5.Tucker, K.E. Does resumption of follicular estradiol synthesis during vernal transition in mares involve a shift in steroidogenic pathways./K.E.Tucker, B.D. Cleaver, D.C.Sharp//J.Biol. Reprod. -1993.-Suppl.1.-P.519.

6. 6.Sharp, D.C. Effects of steroid administration on luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in ovariectomized pony mares in the springtime: pituitary responsiveness to gonadotropin releasing hormone (GnRH), circulating gonadotropin concentrations, and pituitary gonadotropin content/ D.C.Sharp, W.R.Grubaugh, S.D.Davis, J.Weithenauer, C.J.Wilcox//J.Biol.Reprod.-1991.-Vol.44.-P.983–990. <https://doi.org/10.1095/biolreprod44.6.983>

7. 7.Gérard N., Loiseau S., Duchamp G. and Seguin F. Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (1H NMR) / N. Gérard, S. Loiseau, G. Duchamp and F. Seguin//Reproduction (2002) 124, 241–248. DOI: 10.1530/rep.0.1240241

8. 8.Le Goff D. Follicular fluid lipoproteins in the mare: evaluation of HDL transfer from plasma to follicular fluid / D Goff // Acta Biochimica et Biophysica Sinica . -1994.-P.1210 226–232. DOI: 10.1016/0005-2760(94)90125-2

УДК: 576.362:636.2.082.453.52

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.338

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ПЕРЕЖИВАЕМОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Корочкина Е.А.^{1*} – д-р ветеринар. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID0000-0002-7011-4594); Трифонова А.В.² – канд. биол. наук, директор по науке; Бахтурина Е.И.¹ – студ.

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

² ООО «Стэмреновацио»

*e.kora@mail.ru

Ключевые слова: производные мезенхимальных стволовых клеток, сперма, быки-производители.

Keywords: components of mesenchymal stem cell, sperm, bulls.

Поступила: 30.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025

РЕФЕРАТ



Целью исследований явилось изучение влияния производных МСК на переживаемость сперматозоидов быков-производителей. Количество собранных образцов составило 32. После взятия и оценки эякулята, проводили центрифугирование (600 оборотов – 7 минут), далее удаляли семенную плазму и проводили дальнейшее исследование по двум направлениям: 1. инкубация образцов (n=19) с со средой № 1 (кондиционированной средой МСК КМ быков (эксперимент № 1)); 2. инкубация образцов (n=13) со средой № 2 (лизатом МСК КМ быков (эксперимент № 2)). При проведении 1-го эксперимента - инкубации образцов спермы быков-производителей со средой № 1, было зафиксировано непродолжительное время переживаемости (2 часа). При двухчасовой инкубации образцов в данной среде наблюдалось выраженное снижение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов в опытной группе в 2,6 раз ($p \leq 0,05$), в контрольной группе - в 4,7 раза ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями 0 часов инкубации. Достоверное снижение количества нормальных форм сперматозоидов было зарегистрировано при оценке 2-х часовой инкубации спермы в опытной и контрольной группах в 1,1 раз ($p \leq 0,05$). Полученные данные указывают на низкую эффективность применения кондиционированной среды в аспекте улучшения качества спермы. На втором этапе исследований (эксперимент № 2) была проведена оценка эффективности применения среды № 2. При инкубации образцов в данных средах была зафиксирована четырехчасовая переживаемость сперматозоидов, анализ показателей подвижности и морфологии которых указывает на положительное влияние данных производных МСК на функциональную способность клеток, при этом на 4-й час инкубации количество прогрессивно подвижных сперматозоидов составило $41,25 \pm 13,3\%$, количество морфологически нормальных сперматозоидов – $62,13 \pm 2,56\%$.

ВВЕДЕНИЕ/INTRODUCTION

Молочное животноводство является основой продовольственной безопасности нашей страны. Рентабельность данной отрасли во многом зависит от эффективности использования вспомогательных репродуктивных технологий, одним из ключевых факторов успешности применения, которых, является качество спермопродукции производителей и главным образом – срок переживаемости сперматозоидов в половых путях самки. При проведении искусственного осеменения, сперматозоиды быков-производителей перемещаются из матки к верхней трети маточной трубы, где происходит оплодотворение. Процесс транспортировки сперматозоидов сопровождается их взаимодействием с секретом маточных труб, что, безусловно, отражается на функциональной способности мужских половых гамет [7]. Так, согласно данным Mahé С. с соавторами (2021), сперматозоиды в большом количестве задерживаются в перешейке маточной трубы, который является вторым селективным барьером за пределами шейки матки. У коров перешеек маточной трубы характеризуется резким ограничением диаметра матки и наличием складок слизистой оболочки, заполняющих просвет [10]. По данным Druart X. с соавторами (2009), у овец через 4 часа после осеменения наблюдалось большое количество сперматозоидов от основания рогов матки до перешейка маточной трубы и резкое их снижение в маточной трубе. Согласно исследованиям Sumransap P. с соавторами (2007), Tummaruk P. с соавторами (2007), количество сперматозоидов баранов, локализованных в верхней части рога матки составило 42%, в перешейке - только 0,5%. У коров через 18 ч после осеменения в матке было до 20 000 сперматозоидов и только 2000 в перешейке маточной трубы [13]. Что касается качественных показателей сперматозоидов, то у свиней, крыс, мышей и хомяков в нижней части маточной трубы были обнаружены только живые [3], подвижные, морфологически нормальные [9] сперматозоиды, а также сперматозои-

ды, имеющие неповрежденную акросому [10]. Принимая во внимание вышеизложенные факты, а также особенности проведения искусственного осеменения, актуальным является разработка сред, увеличивающих длительность переживаемости сперматозоидов производителей, находящихся в половых путях самки. Результаты, полученные в области клеточной биологии, указывают на перспективность применения производных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) - кондиционированной среды (КС) и лизата (КР) в репродуктивной медицине [2]. В связи с этим, целью исследований явилось изучение влияния производных МСК на срок переживаемости сперматозоидов быков-производителей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работу выполняли в научно-образовательной лаборатории ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Сперму получали от двух половозрелых быков (1,5 года) голштинской породы с помощью искусственной вагины IMV (Франция). После взятия и оценки эякулята (n=32), образцы центрифугировали (600 оборотов – 7 минут), удаляли семенную плазму и проводили дальнейшее исследование по двум направлениям: 1. инкубация образцов (n=19) с кондиционированной средой МСК КМ быков (эксперимент № 1); 2. инкубация образцов (n=13) с лизатом МСК КМ быков (эксперимент № 2) [1].

При оценке качества спермы проводили исследование следующих показателей: концентрации и подвижности (с помощью камеры Маклера, увеличение 10x10, предварительно образцы разводили 1:100). Степень подвижности оценивали по следующим критериям: прогрессивная, медленная прогрессивная, непрогрессивная, неподвижные (согласно протоколу 6-го издания ВОЗ (2021)). Морфологию гамет определяли согласно критериям Крюгера, в качестве красителя использовали набор SpermBlue (Microptic, 100x10, иммерсионное масло).

Жировую ткань (ЖТ) и костный мозг (КМ) получали после седации диазепамом (0.05 мг/кг внутривенно) и местной анестезии 2%-ным гидрохлоридом лидокаина у здоровых коров возрастом 1-2 года в хозяйстве Ленинградской области.

Пункцию КМ (3 см3) брали после асептической подготовки кожи при помощи иглы для биопсии из подвздошной кости и переносили в стерильную пробирку с гепарином. Пробирки с биоматериалом доставляли в лабораторию при 4 – 8°C в течение 2 часов.

В лаборатории отдела разработки клеточных биотехнологий ООО «Стэм реновацио» биоматериал обрабатывали. Для проведения экспериментов по влиянию компонентов МСК на сохранность и поддержание качества спермы быков, клетки деконсервировали и культивировали в среде «MEM + 10 % FBS. Начиная с 3-го пассажа после размораживания, их использовали в работе.

Кондиционированную среду (КС) отбирали через 96 ч культивирования в матрасах с 90-100% монослоем клеток.

Для получения лизата МСК клетки культивировали в течение 96 ч до формирования 90-100%, снимали при помощи 0,05%-ного раствора трипсина в растворе Версена (ПанЭко, Россия), отмывали от диспергирующего раствора при помощи раствора PBS, считали в камере Горяева, готовили суспензию клеток в PBS с концентрацией МСК $2 \cdot 10^7$ кл/мл, фасовали в криопробирки по 100 мкл. Лизат МСК получали при помощи двукратной быстрой заморозки до -196°C – медленного оттаивания при комнатной температуре в течение 20 минут. Финальное оттаивание производили непосредственно перед добавлением к сперматозоидам.

При проведении эксперимента №1 было сформировано две группы проб по 19 образцов в каждой (n=19): контрольная (сперматозоиды 7×10^8 кл/мл + фосфатно-солевой буфер (PBS) 100 мкл), опытная (сперматозоиды 7×10^8 кл/мл) + среда №1 (кондиционированная среда (КС) МСК КМ в соотношении 1:1)). При про-

ведении эксперимента №2 - две группы проб по 13 образцов в каждой (n=13): контрольная (сперматозоиды 7×10^8 кл/мл + фосфатно-солевой буфер (PBS) 100 мкл), опытная (сперматозоиды 7×10^8 кл/мл) + среда №2 (лизат (КР) МСК КМ в соотношении 1:1). С целью установления степени переживаемости сперматозоидов в средах, содержащих производные МСК (КС и КР), была проведена трёхэтапная оценка качества спермы: 0, 2 и 4 часа после инкубации при температуре 38°C. Сравнение значений производилось на каждом этапе инкубации (0, 2 и 4 часа) внутри каждой группы. При этом достоверными считались различия при $p \leq 0,05$. Статистическая обработка данных была проведена при помощи программы Stattech и Medstatistic «Медицинская Статистика» с вычислением показателей вариационного ряда и t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Как известно, МСК это мультипотентные стромальные клетки, присутствующие во всех органах и тканях живого организма, способные дифференцироваться в различные типы клеток и участвовать в процессе регенерации. МСК и их производные имеют противовоспалительные свойства, способствуют формированию новых сосудистых сетей, эпителизации раневой поверхности, стимулированию к репарации резидентных стволовых клеток в месте повреждения. Кроме того, установлена способность МСК вызывать подавление образования активных форм кислорода и активных форм азота, а также переноса здоровых митохондрий в повреждённые клетки [2].

На первом этапе исследований (эксперимент № 1) была проведена оценка эффективности применения среды № 1 (кондиционированной среды МСК) в аспекте сохранения функциональной способности сперматозоидов. Результаты исследования отражены на рисунках 1 и 2.

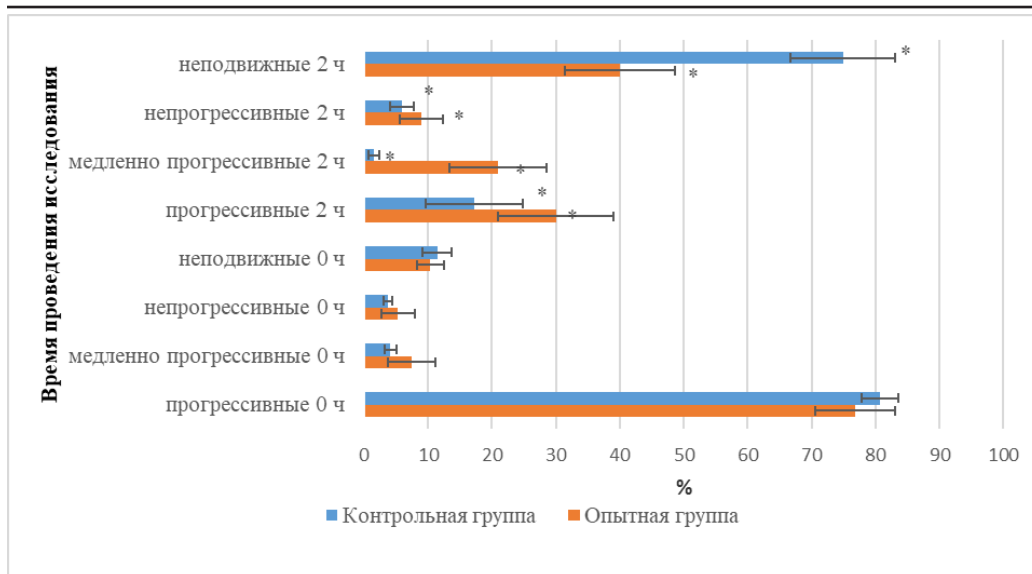


Рисунок 1 – Динамика прогрессивности движений сперматозоидов быков-производителей в процессе двухчасовой инкубации со средой № 1 ($M \pm m$, $n=19$).
Примечание: * - $p \leq 0,05$ (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы).

При проведении инкубации образцов спермы быков-производителей со средой № 1, было зафиксировано непродолжительное время переживаемости сперматозоидов (2 часа).

Результаты анализа двигательной активности сперматозоидов при двухчасовой инкубации в кондиционированных средах МСК указывают на выраженное снижение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов в опытной группе в 2,6 раз ($p \leq 0,05$), в контрольной группе - в 4,7 раза ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями 0 часов инкубации. Было зарегистрировано увеличение количества медленно прогрессивно двигающихся сперматозоидов в опытной группе в 2,8 раз ($p \leq 0,05$) и, напротив, уменьшение количественного значения данного показателя в контрольной группе (2,8 раз, $p \leq 0,05$). Наблюдалось увеличение количества неprogressивно двигающихся сперматозоидов в опытной и контрольной группах на 2-й час инкубации в 2,8 раз ($p \leq 0,05$), а также выраженное увеличение количества неподвижных сперматозоидов в опытной и контрольной группах в 3,9 и

6,6 раз ($p \leq 0,05$) соответственно.

Результаты оценки морфологической структуры сперматозоидов отражены на рисунке 2.

Согласно данным рисунка 2, снижение количества нормальных форм сперматозоидов было зарегистрировано при оценке 2-х часовой инкубации спермы в опытной и контрольной группах в 1,1 раз. Наиболее выраженные изменения морфологической структуры сперматозоидов были зафиксированы при оценке целостности хвостовой части. Так, наблюдалось увеличение сперматозоидов с дефектами хвоста на 2-й час инкубации в опытной группе в 1,2 раз, в контрольной группе – в 1,1 раз по сравнению с показателями 0 часов инкубации. Таким образом, полученные данные указывают на низкую эффективность применения кондиционированной среды в аспекте улучшения качества спермы.

На втором этапе исследований (эксперимент № 2) была проведена оценка эффективности применения среды № 2 (лизат МСК), результаты отражены на рисунках 3-4. При инкубации образцов в

средах, содержащих лизат МСК была зафиксирована четырехчасовая переживаемость сперматозоидов, анализ показателей подвижности и морфологии которых указывает на положительное влияние данных производных МСК на функциональную способность клеток (рисунок 3).

Так, было установлено достоверное уменьшение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов в контрольной и опытной группах на 2-й час инкубации в 6,2 ($p \leq 0,05$) и 2,5 ($p \leq 0,05$) раз соответственно по сравнению с показателями 0 часов инкубации. Данная тен-

денция была зарегистрирована на 4-й час инкубации в образцах опытной группы с разницей значений в 2,0 раз ($p \leq 0,05$).

Что касается динамики количества медленно прогрессивных сперматозоидов, то увеличение значений отмечалось на 2-й час инкубации в опытной и контрольной группе в 1,03 и 6,0 ($p \leq 0,05$) раз соответственно по сравнению со значениями 0 часов. Далее, на 4-й час инкубации было зафиксировано уменьшение значения данного показателя преимущественно в опытной группе в 1,4 раз ($p \leq 0,05$).

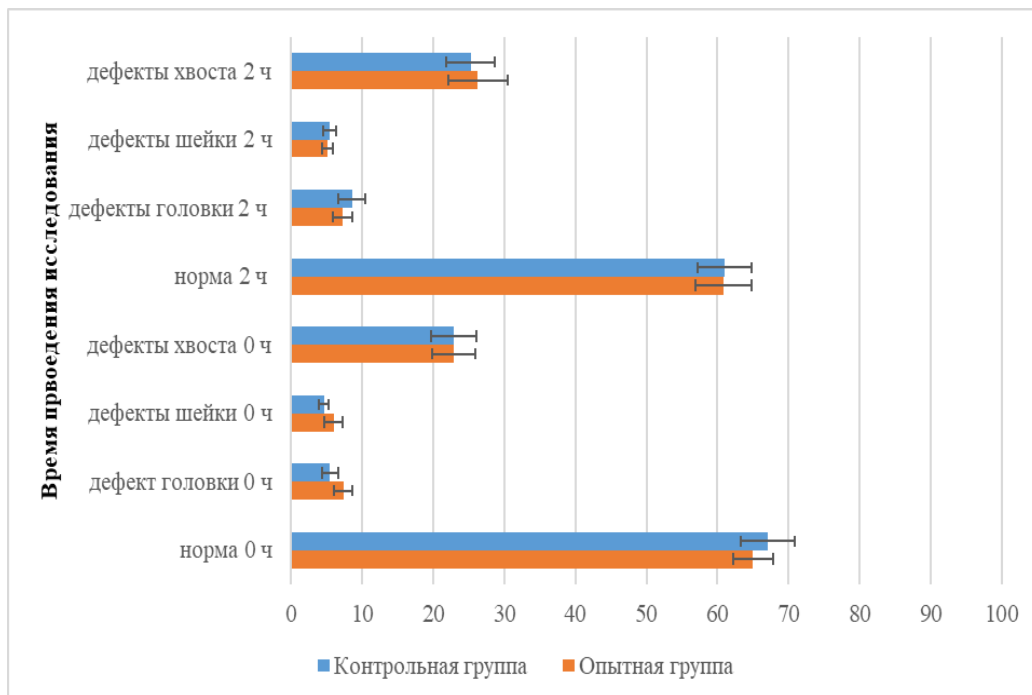


Рисунок 2 – Результаты оценки морфологии сперматозоидов быков-производителей в процессе двухчасовой инкубации со средой № 1 ($M \pm t$, $n=19$).

При анализе результатов оценки морфологической структуры сперматозоидов была зафиксирована тенденция к увеличению количества морфологически нормальных клеток в процессе 4-х часовой инкубации в средах, содержащих лизат МСК в 1,03 и 1,1 ($p \leq 0,05$) раз по сравнению с результатами 0 часов инкубации

(рисунок 4).

Было зарегистрировано уменьшение количества сперматозоидов с дефектами головки и хвоста в опытной группе на 4-й час инкубации в 1,3 ($p \leq 0,05$) и 1,1 раз по сравнению с результатами, полученными при оценке 0 часов инкубации. Что касается контрольной группы, то на 4-й час

инкубации отмечалась тенденция к снижению количества нормальных сперматозоидов в 1,1 ($p \leq 0,05$) раз, увеличение сперматозоидов с дефектами головки – в 1,1 раз, с дефектами хвоста – в 1,3 ($p \leq 0,05$) раз.

Таким образом, полученные результаты указывают на выраженный положительный эффект применения компонента МСК – лизата по сравнению с кондиционированной средой. При этом, нужно отметить, что ключевым механизмом, лежащим в основе терапевтического действия МСК и их производных, является паракринное действие их секреторных компонентов, межклеточный транспорт митохондрий и обмен внеклеточными везикулами, содержащими микроРНК, липиды и метаболиты [9].

Согласно исследованиям Rogulska O. (2024), трофические факторы и воспалительные модуляторы, высвобождаемые МСК, демонстрирует мощную терапевтическую эффективность в многочисленных

доклинических моделях и клинических испытаниях. По данным Kavaldzhieva K. (2025), факторами роста, секретируемыми МСК, которые поддерживают ангиогенез и заживление ран, являются основной фактор роста фибробластов (bFGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF), ангиопоэтин 1 (ANG-1), фактор роста плаценты (PIGF), интерлейкин 6 (IL-6) и моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 (MCP-1). Установлены также антиоксидантные свойства секрета МСК, в частности высвобождая глутатион, HGF, IL-12 и S-трансферазы Р, МСК помогают противостоять окислительному стрессу в поврежденных тканях.

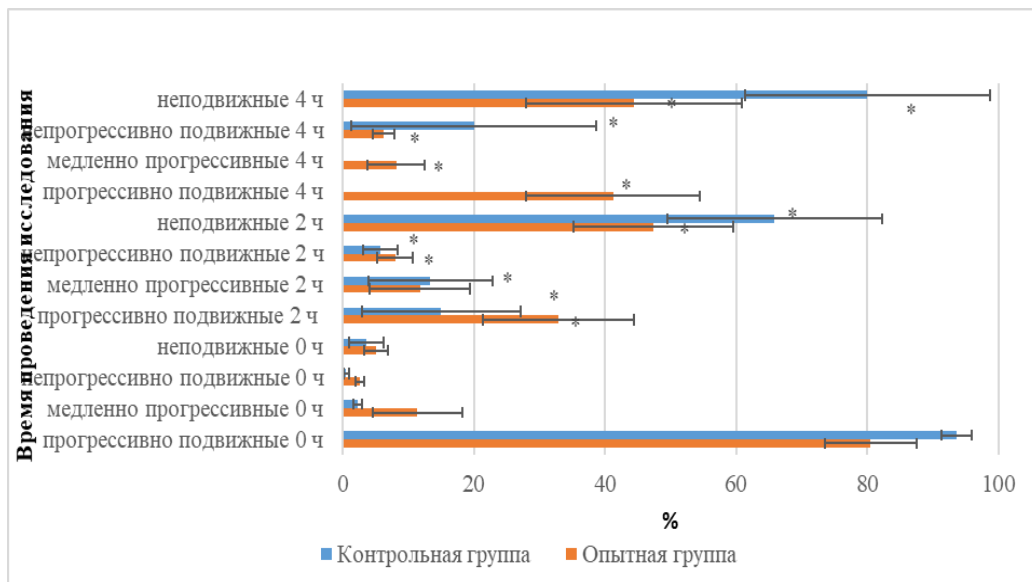


Рисунок 3 – Результаты оценки подвижности сперматозоидов быков-производителей в процессе четырехчасовой инкубации со средой № 2 ($M \pm m$, $n=13$).
Примечание: * - $p \leq 0,05$ (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы)

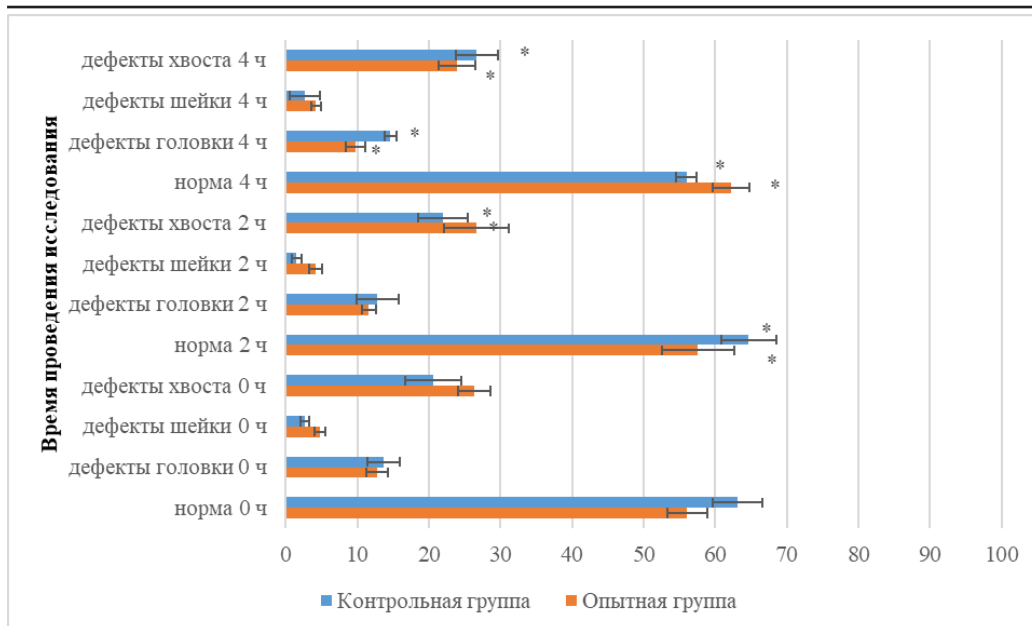


Рисунок 4 – Результаты оценки морфологии сперматозоидов быков-производителей в процессе четырёхчасовой инкубации со средой № 2 ($M \pm m$, $n=13$).

Примечание: * - $p \leq 0,05$ (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, полученные результаты указывают на возможность применения сред, содержащих производные МСК, для сохранения переживаемости сперматозоидов в половых путях самки. При этом эффективным является использование лизата МСК, полученного из костного мозга быков. Так, четырехчасовая инкубация образцов в средах, содержащих данный компонент МСК способствует сохранению двигательной активности сперматозоидов, при этом на 4-й час инкубации количество прогрессивно подвижных сперматозоидов составило $41,25 \pm 13,3\%$, количество морфологически нормальных сперматозоидов – $62,13 \pm 2,56\%$. Что касается эффективности инкубации сперматозоидов в кондиционированных средах МСК, то продолжительность переживаемости сперматозоидов составила 2 часа, при этом количество прогрессивно подвижных сперматозоидов было $30,00 \pm 9,0\%$, количество морфологически нормальных сперматозои-

дов – $66,33 \pm 4,55\%$. Учитывая полученные данные, актуальным является изучение регенеративного действия производных МСК, в частности лизата, на переживаемость сперматозоидов после оттаивания.

THE INFLUENCE OF COMPONENT MESENCHYMAL STEM CELLS ON THE QUALITY OF BULLS' SPERM

Korochkina E.A. ^{1*} – PhD. In Veterinary science, Associate Professor, Department of Genetic and Reproductive Technologies (ORCID0000-0002-7011-4594); **Trifonova A.V.** ² – PhD in biological science, the director of science; **Bachturina E.I.** ¹ – student.

¹ St. Petersburg state academy of veterinary medicine

² LLC "Scientific Center for Cytogenetic Testing"

*e.kora@mail.ru

ABSTRACT

The aim of the study was a comparative

analysis of the effect of conditioned medium and lysate on the qualitative parameters of bull sperm. The number of collected samples was 32. After collecting and evaluating the ejaculate, centrifugation was performed (600 rpm - 7 minutes), then the seminal plasma was removed and further research was carried out in two directions: 1. incubation of samples ($n = 19$) with 1st extender (conditioned medium of bull BM MSCs (experiment No. 1)); 2. incubation of samples ($n = 13$) with 2d extender (lysate of bull BM MSCs (experiment No. 2)). During the 1st experiment - incubation of bull sperm samples with 1st extender, a short survival time (2 hours) was recorded. During two-hour incubation of samples in conditioned media of MSCs, a significant decrease in the number of progressively moving spermatozoa was observed in the experimental group by 2.6 times ($p \leq 0.05$), in the control group - by 4.7 times ($p \leq 0.05$) compared to the values of 0 hours of incubation. A reliable decrease in the number of normal forms of spermatozoa was recorded when evaluating a 2-hour incubation of sperm in the experimental and control groups by 1.1 times ($p \leq 0.05$). The obtained data indicate low efficiency of using conditioned medium in terms of improving sperm quality. At the second stage of the study (experiment No. 2), the efficiency of using MSCs lysate was assessed. When incubating samples in 2d extender, a four-hour survival of spermatozoa was recorded, the analysis of motility and morphology indicators of which indicates a positive effect of these MSC derivatives on the functional capacity of cells, while at the 4th hour of incubation the number of progressively motile spermatozoa was $41.25 \pm 13.3\%$, the number of morphologically normal spermatozoa was $62.13 \pm 2.56\%$.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Корочкина Е. А. Перспективы применения производного мезенхимальных стволовых клеток как способа повышения качества спермы быков-производителей / Е. А. Корочкина, А. В. Трифонова, В. В. Никитин [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 486-

492. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.4.486. – EDNEJLIYU.
2. Чапленко А.А. Актуальные направления применения клеточной терапии в регенеративной медицине / А.А. Чапленко, М.Д. Хорольский, Е.В. Мельникова, В.А. Меркулов // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. -2020. - 20(2) – С. 82-88. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-2-82-88>
3. Baker RD. Transport of live and dead boar spermatozoa within the reproductive tract of gilts / R.D. Baker, A.A. Degen// Reproduction. - 1972; 28:369–377.(20)
4. Druart X. In vivo imaging of in situ motility of fresh and liquid stored ram spermatozoa in the ewe genital tract / X. Druart, J. Cognié, G. Baril, F. Clément, J-L. Dacheux, J-L. Gatti // Reproduction 2009; 138:45–53. (16)
5. Kavalzhieva, K.; Mladenov, N.; Markova, M.; Belezova, K. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Potential Applications in Human Infertility Caused by Hormonal Imbalance, External Damage, or Immune Factors. Biomedicines 2025, 13, 586. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13030586>
6. Mahé C. Sperm migration, selection, survival, and fertilizing ability in the mammalian oviduct / C. Mahé, A.M. Zlotkowska, K. Reynaud, G. Tsikis, P. Mermillod, X. Druart, J. Schoen, M. Saint-Dizier // Biol Reprod.- 2021.- Aug 3;105(2):317-331. doi: 10.1093/biolre/roab105. PMID: 34057175; PMCID: PMC8335357.
7. Miller DJ. Review: The epic journey of sperm through the female reproductive tract. animal. 2018;12(s1):s110-s120. doi:10.1017/S1751731118000526
8. Muro Y. Behavior of mouse spermatozoa in the female reproductive tract from soon after mating to the beginning of Fertilization / Y. Muro, H. Hasuwa, A. Isotani, H. Miyata, K.Yamagata, M. Ikawa, R. Yanagimachi, M.Okabe // Biol Reprod. - 2016; 94:80.
9. Muro Y, Hasuwa H, Isotani A, Miyata H, Yamagata K, Ikawa M, Yanagimachi R, Okabe M. Behavior of mouse spermatozoa in the female reproductive tract from soon after mating to the beginning of Fertiliza-

- tion / Y Muro, H. Hasuwa, A. Isotani, H. Miyata, K. Yamagata, M. Ikawa, R. Yanagimachi, M. Okabe // *Biol Reprod* 2016; 94:80.
 10. Rogulska, O., Vackova, I., Prazak, S. et al. Storage conditions affect the composition of the lyophilized secretome of multipotent mesenchymal stromal cells. *Sci Rep* 14, 10243 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60787-z>
 11. Suarez S.S. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int J Dev Biol* 2008; 52:455–462. (15)
 12. Sumransap P. Sperm distribution in the reproductive tract of sows after intrauterine insemination / P. Sumransap, P. Tummaruk, A. Kunavongkrit // *Reprod Domest Anim.* - 2007; 42:113–117.
 13. Suprayogi T.W. Utilization of bull fertility-associated antigen to improve the quality of frozen bull semen / T.W. Suprayogi, H. Hardijanto, M. Hariadi, F.A. Rantam, W. Darmanto // *Vet World.* -2020 Oct;13 (10):2112-2117. doi: 10.14202/vetworld.2020.2112-2117.
 14. Tummaruk P. Distribution of spermatozoa and embryos in the female reproductive tract after unilateral deep intra uterine insemination in the pig / P. Tummaruk, P. Sumransap, M. Techakumphu, A. Kunavongkrit // *Reprod Domest Anim.* - 2007; 42:603–609.
- REFERENCES**
1. Korochkina E. A. Prospects for the use of a mesenchymal stem cell derivative as a way to improve the quality of sperm of breeding bulls / E. A. Korochkina, A. V. Trifonova, V. V. Nikitin [et al.] // *International Bulletin of Veterinary Medicine.* - 2024. - No. 4. - P. 486-492.- DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.4.486.- EDN EJLIYU.
 2. Chaplenko A. A. Current areas of application of cell therapy in regenerative medicine / A. A. Chaplenko, M. D. Khorolsky, E. V. Melnikova, V. A. Merkulov // *BIOpreparations. Prevention, diagnostics, treatment.* - 2020.- 20(2) – P. 82-88. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-2-82-88>
 3. Baker RD. Transport of live and dead boar spermatozoa within the reproductive tract of gilts / R.D. Baker, A.A. Degen// *Reproduction.* - 1972; 28:369–377.(20)
 - 4.Druart X. In vivo imaging of in situ motility of fresh and liquid stored ram spermatozoa in the ewe genital tract / X. Druart, J. Cognié, G. Baril, F. Clément, J-L. Dacheux, J-L. Gatti // *Reproduction* 2009; 138:45–53. (16)
 5. Kavalzhieva, K.; Mladenov, N.; Markova, M.; Belemzova, K. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Potential Applications in Human Infertility Caused by Hormonal Imbalance, External Damage, or Immune Factors. *Biomedicines* 2025, 13, 586. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13030586>
 6. Mahé C. Sperm migration, selection, survival, and fertilizing ability in the mammalian oviduct / C. Mahé, A.M. Zlotkowska, K. Reynaud, G. Tsikis, P. Mermillod, X. Druart, J. Schoen, M. Saint-Dizier // *Biol Reprod.* - 2021.- Aug 3;105(2):317-331. doi: 10.1093/biolre/ioab105. PMID: 34057175; PMCID: PMC8335357.
 - 7.Miller DJ. Review: The epic journey of sperm through the female reproductive tract. *animal.* 2018;12(s1):s110-s120. doi:10.1017/S1751731118000526
 - 8.Muro Y. Behavior of mouse spermatozoa in the female reproductive tract from soon after mating to the beginning of Fertilization / Y. Muro, H. Hasuwa, A. Isotani, H. Miyata, K.Yamagata, M. Ikawa, R. Yanagimachi, M.Okabe // *Biol Reprod.* - 2016; 94:80.
 - 9.Muro Y, Hasuwa H, Isotani A, Miyata H, Yamagata K, Ikawa M, Yanagimachi R, Okabe M. Behavior of mouse spermatozoa in the female reproductive tract from soon after mating to the beginning of Fertilization / Y Muro, H. Hasuwa, A. Isotani, H. Miyata, K. Yamagata, M. Ikawa, R. Yanagimachi, M. Okabe // *Biol Reprod* 2016; 94:80.
 10. Rogulska, O., Vackova, I., Prazak, S. et al. Storage conditions affect the composition of the lyophilized secretome of multipotent mesenchymal stromal cells. *Sci Rep* 14, 10243 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60787-z>
 11. Suarez S.S. Regulation of sperm storage

- and movement in the mammalian oviduct. *Int J Dev Biol* 2008; 52:455–462. (15)
12. Sumransap P. Sperm distribution in the reproductive tract of sows after intrauterine insemination / P. Sumransap, P. Tummaruk, A. Kunavongkrit // *Reprod Domest Anim.* - 2007; 42:113–117.
13. Suprayogi T.W. Utilization of bull fertility-associated antigen to improve the quality of frozen bull semen / T.W. Suprayogi, H. Hardijanto, M. Hariadi, F.A. Rantam, W. Darmanto // *Vet World.* -2020 Oct;13 (10):2112-2117. doi: 10.14202/vetworld.2020.2112-2117.
14. Tummaruk P. Distribution of spermatozoa and embryos in the female reproductive tract after unilateral deep intra uterine insemination in the pig / P. Tummaruk, P. Sumransap, M. Techakumphu, A. Kunavongkrit // *Reprod Domest Anim.* - 2007; 42:603–609.

УДК: 619:618:636.2

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.348

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ПОСЛЕРОДОВОМ ПАРЕЗЕ У КОРОВ

Герунова Л.К.* – д-р ветеринар. наук, проф.; Кирюхина Е.А. – асп.;
Шитиков В.В. – канд. ветеринар. наук, доц.

ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет
им. П.А. Столыпина»

*tv.gerunov@omgau.org

Ключевые слова: послеродовой парез, общий белок, глобулины, кальций, креатинин, щелочная фосфатаза, фосфорно-кальцевый обмен.

Keywords: postpartum paresis, total protein, globulins, calcium, creatinine, alkaline phosphatase, phosphorus-calcium metabolism.

Поступила: 25.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Послеродовой парез – широко распространённое заболевание молочных коров, встречающееся в условиях промышленного содержания животных и в личных подсобных хозяйствах. Послеродовой парез регистрируется в условиях интенсивного молочного животноводства во всех странах мира. Однако, несмотря на широкое распространение, этиология и патогенез его остаются недостаточно изученными. Цель исследования – анализ биохимических изменений в сыворотке крови у коров при послеродовом парезе. Объект исследования – кровь отелившихся коров, у которых отмечали признаки послеродового пареза, и без патологии послеродового периода в качестве контроля. Объектом исследования была сыворотка крови из яремной вены. Отбор материала осуществляли в вакуумные пробирки через 1-2 суток после отёла. Исследование проводили в БУ Омской области «Омская областная ветеринарная лаборатория» на автоматическом биохимическом анализаторе BioLit-8020. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы Statistica 13.0 (StatSoft Inc, USA). Для сравнения межгрупповых показателей применяли параметрический t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Корреляционную связь щелочной фосфатазы с концентрацией кальция устанавливали по критерию Кендал-Тау. В результате исследования были выявлены статистически значимые изменения в содержании общего белка ($p = 0,006$), глобулинов ($p = 0,031$), кальция ($p < 0,001$), креатинина ($p = 0,012$), а также активности щелочной фосфатазы ($p = 0,041$). Отражена взаимосвязь исследуемых показателей с нарушением фосфорно-кальцевого обмена. Особого внимания заслуживает снижение функциональной активности почек и печени, что необходимо учитывать при разработке лечебно-профилактических мероприятий.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Послеродовой парез – широко распространённое заболевание молочных коров, встречающееся в условиях промышленного содержания животных и в личных подсобных хозяйствах [2]. Причиняемый им экономический ущерб обусловлен затратами на лечение больных животных, восполнением поголовья в случае падежа, а также снижением качества молока и молозива [12]. Первичные причины возникновения данной болезни до сих пор остаются вопросом острой дискуссии. Чаще развитие болезни связывают с недостатком кальция [21], некоторые авторы придают большее значение развитию окислительного стресса [14]. В.С. Авдеев и соавт. предполагают связь послеродового пареза с деградацией компонентов материнской части плаценты [1]. Патогенетическая роль метаболических нарушений до конца не изучена, мнение о вовлечённости в патологический процесс тех или иных органов и систем требует экспериментального подтверждения. Это не только усложняет разработку более эффективных способов профилактики и лечения, но и не позволяет судить об их влиянии на органы и системы, вовлечённые, возможно, в патологический процесс. В связи с этим возрастает диагностическая значимость биохимических исследований сыворотки крови у животных с нарушением фосфорно-кальциевого обмена.

Цель исследования – выявить изменения биохимических показателей сыворотки крови у коров с клиническими признаками послеродового пареза и обосновать их связь с нарушением фосфорно-кальциевого обмена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили в условиях животноводческого комплекса промышленного типа на двух группах животных чёрно-пёстрой породы 4-5-й лактации по пять голов в каждой. Отёл у всех животных протекал без осложнений. При этом в первую группу вошли коровы с клиническими проявлениями послеродового пареза,

во вторую – коровы без признаков указанной патологии. При послеродовом парезе отмечали следующие клинические признаки: неспособность подняться из лежачего положения на груди, запрокидывание головы вбок, возвращение шеи в боковое положение при попытках вернуть её в нормальное положение, мидриаз, атония преджелудков, понижение температуры тела, холодные уши и конечности, отсутствие кожной реакции на раздражитель. Объектом исследования была сыворотка крови из ярёмной вены. Отбор материала осуществляли в вакуумные пробирки через 1-2 суток после отёла. Исследование проводили на автоматическом биохимическом анализаторе BioLit-8020. Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием программы Statistica 13.0 (StatSoft Inc, USA). Для сравнения межгрупповых различий применяли параметрический t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Корреляционную связь щелочной фосфатазы с концентрацией кальция устанавливали по критерию Кендал-Тау.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При исследовании сыворотки крови определяли следующие показатели: содержание общего белка, альбуминов, глобулинов, кальция, фосфора, магния, креатинина, а также активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и щелочной фосфатазы. При этом учитывали соотношения кальция и фосфора, АЛТ и щелочной фосфатазы. Результаты исследования представлены в таблице.

Повышение содержания общего белка и глобулинов (на 28,8 и 26% соответственно) указывает на развитие абсолютной гиперпротеинемии [23]. Гиперглобулинемия может быть связана с нарушением липидного обмена [3] и кетозом [17]. У высокопродуктивных коров чаще развивается гормональный кетоз. Как правило, ему предшествует физиологическая кетонемия, обременяющая и без того напряжённый обмен до и сразу после отёла [16]. Однотипные тенденции в изменении биохимических показателей сыворотки крови при послеродовом парезе и ке-

тозе у коров подтверждают возможную этиологическую роль последнего в развитии пареза [4].

Л. В. Клетикова (2021) отмечала повышение глобулиновой фракции и гиперпротеинемию при мастите, что указывает на взаимосвязь нарушений белкового обмена и воспаления [13]. Доказана связь уровня общего белка с молочной продуктивностью и линейной принадлежностью коров, что подтверждает влияние генетики и продуктивности коров на возникновение послеродового пареза [6]. Некоторые авторы относят нарушение белкового обмена к этиологическим факторам послеродового пареза непосредственно [8].

Снижение уровня кальция у животных опытной группы может быть обусловлено снижением функции паращитовидных желёз и уменьшением секреции паратгормона, способствующего выходу кальция из костной ткани в кровь [14]. Угнетение функции паращитовидных желёз, в свою очередь, может быть связано с развитием метаболического ацидоза [11] на фоне погрешностей кормления сухостойных коров [10]. Кроме того, снижение уровня кальция может наблюдаться при дефиците витамина D в организме животных [26], недостатке ненасыщенных жирных кислот [20], под влиянием стресса [26].

Послеродовой парез связывают в

Таблица 1 – Биохимические показатели сыворотки крови у коров при послеродовом парезе, n = 5 ($M \pm \sigma$)

Биохимический показатель	1-я группа (послеродовой парез)	2-я группа (контроль)
Общий белок, г/л	80,78±6,45 p = 0,006	68,1 ± 4,17
Альбумины, г/л	32,9±1,8 p = 0,118	30,1 ± 3,10
Глобулины, г/л	47,88±8,01 p = 0,031	38,0 ± 2,82
Кальций, ммоль/л	1,04±0,05 p < 0,001	1,88 ± 0,23
Фосфор, ммоль/л	0,59±0,22 p = 0,095	0,85 ± 0,19
Ca/P	1,89±0,54 p = 0,228	2,25 ± 0,29
Магний, ммоль/л	0,96±0,17 p = 0,560	0,90 ± 0,08
Креатинин, мкмоль/л	117,6±5,31 p = 0,012	107,4 ± 4,77
Глюкоза, ммоль/л	4,09±0,87 p = 0,227	3,11 ± 1,42
АЛТ, U/L	23,6±3,97 p = 0,835	24,2 ± 4,81
Щелочная фосфатаза (ЩФ), U/L	178,4±10,73 p = 0,041	150,8 ± 23,13

Примечание. M – среднее арифметическое; σ – стандартное отклонение; p – достоверность различий относительно контроля.

первую очередь с нарушением фосфорно-кальциевого обмена. Взаимосвязь между нарушением фосфорно-кальциевого и липидного обменов прослеживается при развитии свободно-радикальных процессов, которые приводят к снижению проницаемости клеточных мембран для кальция. Повышенный расход ненасыщенных жирных кислот усугубляет окислительный стресс [14].

Повышение уровня креатинина в сыворотке крови у коров с послеродовым парезом на 9% указывает на нарушение выделительной функции почек, что отражается на состоянии фосфорно-кальциевого обмена с развитием вторичного гиперпаратиреоза [9, 27]. При этом снижение фильтрационной функции почек происходит на фоне повышения активности щелочной фосфатазы на 18%, что указывает на вовлечение в патологический процесс печени. Данная связь неоднократно подтверждалась в исследованиях разных авторов [7, 18].

Креатинин – конечный продукт распада креатина, синтезируемого в основном в печени и играющего важную роль в энергетическом обмене [17]. Повышение уровня креатинина может быть связано с мышечным напряжением у коров с послеродовым парезом, требующим повышенных энергетических затрат [23, 28], снижением почечного клиренса [22, 23, 30], усиленной работой печени в связи с необходимостью мобилизации белка [29].

Повышение уровня щелочной фосфатазы некоторые авторы связывают с нарушением кальций-фосфорного обмена [17, 25]. Кроме того, есть данные, что гиперфосфатаземия наблюдается при заболеваниях печени и желчевыводящих путей, желудочно-кишечного тракта, тиреотоксикозе [3]. В.С. Авдеенко и соавт. (2024) расценивают повышенную активность щелочной фосфатазы как возможный маркер послеродового пареза, так как на фоне повышения значений щелочной фосфатазы, С-реактивного белка, церулоплазмينا и снижения уровня иммунореактивного инсулина развивается отрицательный энергетический баланс, который

является, по мнению некоторых авторов, патогенетически значимым фактором послеродового пареза [24]. Статистически значимой корреляционной связи между щелочной фосфатазой и уровнем кальция, установленной Н.И. Максимовым и А.П. Лашиным [15], мы не отмечали ($r = -0,77$, $p = 0,06$).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, результаты исследования указывают на сложную взаимосвязь метаболических изменений у коров с послеродовым парезом. Особого внимания заслуживают статистически значимые изменения следующих показателей:

- повышение общего белка и глобулинов на 28,8 и 26,0% соответственно;
- снижение уровня кальция на 44,7%;
- повышение концентрации креатинина на 9%;
- повышение активности щелочной фосфатазы на 18%.

Результаты исследования указывают на высокую степень риска гормонального кетоза и повышенную функциональную нагрузку на органы экскреции и детоксикации при возможных погрешностях в кормлении и нарушении минерального обмена.

CHANGES IN THE BLOOD SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS IN COWS WITH POSTPARTUM PARESIS

Gerunova L.K. * – Doctor of Veterinary Sciences, Professor; **Kiryukhina E.A.** – post-graduate student of the Department of Animal pathology, morphology, physiology, pharmacology and toxicology; **Shitikov V.V.** – PhD, docent

Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin

*tv.gerunov@omgau.org

ABSTRACT

Postpartum paresis is a widespread disease of dairy cows, occurring in industrial animal husbandry and in private farms. Postpartum paresis is registered under conditions of intensive dairy farming in all countries of the world. However, despite its wide distri-

bution, its etiology and pathogenesis remain insufficiently studied. The aim of the study was to analyze biochemical changes in the blood serum of cows with postpartum paresis. Object of the study - blood of calving cows with signs of postpartum paresis and without pathology of the postpartum period as a control. The object of the study was blood serum from the jugular vein. The material was collected in vacuum tubes 1-2 days after calving. The study was carried out in the Omsk region "Omsk regional veterinary laboratory" on an automatic biochemical analyzer BioLit-8020. Statistical processing of the study results was carried out using Statistica 13.0 program (StatSoft Inc, USA). The parametric Student's t-criterion for independent samples was used for comparison of intergroup indices. The correlation between alkaline phosphatase and calcium concentration was established using the Kendall-Tau criterion. The study revealed statistically significant changes in the content of total protein ($p = 0.006$), globulins ($p = 0.031$), calcium ($p < 0.001$), creatinine ($p = 0.012$), and alkaline phosphatase activity ($p = 0.041$). The relationship of the studied indicators with the violation of phosphorus-calcium metabolism is reflected. The decrease in functional activity of kidneys and liver deserves special attention, which should be taken into account in the development of therapeutic and preventive measures.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Авдеев В.С., Киягогло С.Ю., Быкова С.Ю. Анализ изменений матричных металлопротеиназ в плаценте коров в родах, осложненных родильным парезом // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. 2024. № 27(1). С. 57-63.

2. Алиев А.Ю. Профилактика послеродового пареза у коров // Научное обеспечение инновационного развития сельского хозяйства. к 110-летию со дня рождения видного государственного и общественного деятеля, первого директора Дагестанского НИИСХ Кисриева Фрида Гасанович: сборник Всероссийской научно-

практической конференции с международным участием. Махачкала, 2024. С. 608-610.

3. Гринь В.А., Кузьминов Н.Д. Алгоритмы диагностики гепатопатологий крупного рогатого скота с использованием методов системного анализа // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. 2020. № 1(9). С. 217-221.

4. Желнакова С.С., Самсоненко Л.А., Воронкова О.А., Евстафьев Д.М. Диагностика, профилактика и лечение кетоза у коров

// Материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения Ивана Сергеевича Кауричева. Материалы конференции. 2024. С. 176-180.

5. Драбович Ю.А. Некоторые вопросы этиологии гепатопатий высокопродуктивных коров // Мир Инноваций. 2018. №1-2. С. 21-26.

6. Еременко В.И., Ротмистровская Е.Г., Стебловская С.Ю. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови у телочек и нетелей разных пород // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. 2022. №1. С. 89-94.

7. Кашаева М.Д., Прошин А.В., Прошина Л.Г., Гаврилова К.В., Швецов Д.А., Сиваев М.А. Зависимость морфофункционального состояния почек и печени от уровня билирубинемии и щелочной фосфатазы при хирургическом лечении холестазов // Вестник Новгородского государственного университета. 2021. №1(122). С. 36-41.

8. Кулаченко И.В., Чуева И.В. Нарушение белкового обмена у высокопродуктивных молочных коров в первые месяцы лактации в условиях промышленного комплекса // Актуальные вопросы современной ветеринарии: Материалы национальной научно-производственной конференции. 2021. С.37-39.

9. Камышников Л.А., Ефремова О.А., Пивовар Р.С. Особенности кардиоренальных взаимоотношений у больных с хронической болезнью почек. Современное

состояние проблемы // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2017. №5(254). С. 13-21.

10. Кердяшов Н.Н. Способы устранения алиментарных заболеваний высокопродуктивного молочного скота // Интенсивные технологии производства продукции животноводства: сборник статей Международной научно-практической конференции. ФГБОУ ВПО «Пензенская государственная сельскохозяйственная академия»; Межотраслевой научно-информационный центр Пензенской государственной сельскохозяйственной академии. Пенза: Изд-во ПГАУ, 2015. С. 25-28.

11. Кирюхина Е.А., Герунова Л.К. Метаболический алкалоз как фактор риска послеродового пареза у коров // Вестник Омского ГАУ. 2024. №4(56). С. 140-149.

12. Кирюхина Е.А., Герунова Л.К. Патогенетические основы профилактики родильного пареза у крупного рогатого скота // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. 2022. №4(31). С. 1.

13. Клетикова Л.В., Маннова М.С., Якименко Н.Н. Метаболические изменения у коров при мастите и их динамика на фоне сорбционной терапии // Вестник КрасГАУ. 2021. №7(172). С. 135-142.

14. Ленкова Н.В. Метаболический стресс у коров при родильном парезе // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2022. №2(14). С. 50-56.

15. Максимов Н.И., Лашин А.П. Анализ рациона и сравнительная оценка биохимических показателей крови у молочного скота с различными формами гипокальциемии // Дальневосточный аграрный вестник. 2021. №2(58). С. 112-118.

16. Малков М.А., Малков Н.В., Данькова Т.В. Еще раз про кетоз. Роль кетоза в общем сценарии развития метаболических нарушений у коров после отела // Эффективное животноводство. 2023. №2(184). С. 34-36.

17. Белоусов А.И., Красноперов А.С., Опарина О.Ю., Суздальцева М.А. Метаболические признаки алиментарного кетоза у высокопродуктивных коров // Тру-

ды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко. 2018. №1(80). С. 88-100.

18. Герунова Л.К., Герунов Т.В., Шитиков В.В., Гонохова М.Н., Герунов В.И., Крючек Я.О., Тарасенко А.А. Микотоксины и эприномектин: потенциальные риски при сочетанном действии на организм животных // Вестник Омского государственного аграрного университета. 2023. №1(49). С. 84-92.

19. Кисельникова О.В., Белова К.Ю., Ватакмадзе Н.Д., Журкова Н.В. Низкая щелочная фосфатаза, как маркер орфанного заболевания: фокус на гипофосфатазию // Поликлиника. 2024. №2. С. 15-21.

20. Рахимжанов И.А., Галлиев Б.Х., Шарнина Н.М., Дусаева Х.Б. Обмен кальция и фосфора в организме сухостойных мясных коров при скармливании различных уровней ненасыщенных жирных кислот // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2017. №5(67). С. 176-179.

21. Быстрова И.Ю., Майорова Ж.С., Герцева К.А., Киселева Е.В., Лозовану М.И. Применение кальциевых болюсов в животноводстве // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2021. № 4 (13). С. 33-41.

22. Чусова Г.Г. Особенности белкового обмена у высокопродуктивных коров в условиях экологической нагрузки // О вопросах и проблемах современных математических и естественных наук: сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. 2015. № 2. С. 63.

23. Милаева И.В., Воронина О.А., Зайцев С.Ю. Особенности метаболизма лактирующих коров // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic sciences. 2017. №2(62). С. 275-281.

24. Авдеев В.С., Макавчик С.А., Сафонов Д.И. Оценка достоверности маркеров прогноза родильного пареза и задержания послёда у коров // Ветеринария и кормление. 2024. №5. С. 4-10.

25. Ашенбреннер А.И., Чекунова Ю.А., Хаперский Ю.А. Плацентарная

щелочная фосфатаза как прогностический маркер послеродовых заболеваний у коров // Вестник КрасГАУ. 2021. № 7. С. 158-162.

26. Быстрова И.Ю., Киселева Е.В., Герцева К.А., Лозовану М.И. Распространение и факторы риска развития послеродовой гипокальциемии у крупного рогатого скота // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2020. №4(48). С. 10-16.

27. Ефремова О.А., Маликова А.А., Камышинова Л.А., Болховитина О.А. Современные аспекты диагностики и лечения гиперпаратиреоза у больных с хронической болезнью почек // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2015. №22(219). С. 12-17.

28. Цыганков Е.М., Менькова А.А., Курская Ю.А. Влияние кормовой добавки псг-п-карбамилглутамат на показатели общего белка и его фракций, концентрацию мочевины, креатинина у сухостойных коров и их потомства // Вестник Чувашского государственного аграрного университета. 2024. №2(29). С. 142-147.

29. Megahed A.A., Hiew M.W.H., Ragland D., Constable P.D. Changes in skeletal muscle thickness and echogenicity and plasma creatinine concentration as indicators of protein and intramuscular fat mobilization in periparturient dairy cows. J Dairy Sci. 2019;102(6):5550-5565. doi: 10.3168/jds.2018-15063. PMID: 30954258.

30. Prah M.C., Müller C.B.M., Albrecht D., Koch F., Wimmers K., Kuhla B. Hepatic urea, creatinine and uric acid metabolism in dairy cows with divergent milk urea concentrations. Sci Rep. 2022;12(1):17593. doi: 10.1038/s41598-022-22536-y. PMID: 36266429; PMCID: PMC9585098.

REFERENCES

1. Avdeenko V.S., Kilyaoglo S.YU., Bykova S.YU. Analiz izmenenij matriksnyh metalloproteinaz v placentе korov v rodah, oslozhnennyh rodil'nyim parezom // Aktual'nye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva. 2024. № 27(1). С. 57-63.

(In Russ.)

2. Aliev A.YU. Profilaktika poslerodovogo pareza u korov // Nauchnoe obespechenie innovacionnogo razvitiya sel'skogo hozyajstva. k 110-letiyu so dnya rozhdeniya vidnogo gosudarstvennogo i obshchestvennogo deyatelya, pervogo direktora Dagestanskogo NIISKH Kisrieva Frida Gasanovich: sbornik Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. Mahachkala, 2024. S. 608-610. (In Russ.)

3. Grin' V.A., Kuz'minov N.D. Algoritmy diagnostiki gepatopatologij krupnogo rogatogo skota s ispol'zovaniem metodov sistemnogo analiza // Sbornik nauchnyh trudov Krasnodarskogo nauchnogo centra po zootekhnii i veterinarii. 2020. №1(9). С. 217-221. (In Russ.)

4. ZHelnakova S.S., Samsonenko L.A., Voronkova O.A., Evstaf'ev D.M. Diagnostika, profilaktika i lechenie ketoza u korov // Materialy Vserossijskoj (nacional'noj) nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchyonnoy 110-letiyu so dnya rozhdeniya Ivana Sergeevicha Kauricheva. Materialy konferencii. 2024. S. 176-180. (In Russ.)

5. Drabovich YU.A. Nekotorye voprosy etiologii gepatopatij vysokoproduktivnyh korov // Mir Innovacij. 2018. № 1-2. С. 21-26. (In Russ.)

6. Eremenko V.I., Rotmistrovskaya E.G., Steblovskaya S.YU. Aktivnost' shchelochnoj fosfatazy v syvorotke krovi u telochek i netelej raznyh porod // Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Biologiya. Himiya. 2022. №1. С. 89-94. (In Russ.)

7. Kashaeva M.D., Proshin A.V., Proshina L.G., Gavrilova K.V., SHvecov D.A., Sivaev M.A. Zavisimost' morfofunkcional'nogo sostoyaniya pochek i pecheni ot urovnya bilirubinemii i shchelochnoj fosfatazy pri hirurgicheskom lechenii holestazov // Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. 2021. №1(122). С. 36-41. (In Russ.)

8. Kulachenko I.V., CHueva I.V. Narushenie belkovogo obmena u vysokoproduktivnyh molochnyh korov v pervye mesyacy laktacii v usloviyah promyshlen-

- nogo kompleksa // Aktual'nye voprosy sovremennoj veterinarii: Materialy nacional'noj nauchno-proizvodstvennoj konferencii. 2021. S.37-39. (In Russ.)
9. Kamyshnikova L.A., Efremova O.A., Pivovarov R.S. Osobennosti kardiorenal'nyh vzaimootnoshenij u bol'nyh s hronicheskoy bolezn'yu pochech. Sovremennoe sostoyanie problemy // Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Medicina. Farmaciya. 2017. №5 (254). S. 13-21. (In Russ.)
10. Kerdyashov N.N. Sposoby ustraneniya alimentarnykh zabolevanij vysokoproduktivnogo molochnogo skota // Intensivnye tekhnologii proizvodstva produkcii zhivotnovodstva: sbornik statej Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii. FGBOU VPO «Penzenskaya gosudarstvennaya sel'skohozyajstvennaya akademiya»; Mezhotraslevoj nauchno-informacionnyj centr Penzenskoj gosudarstvennoj sel'skohozyajstvennoj akademii. Penza: Izd-vo PGAU, 2015. S. 25-28. (In Russ.)
11. Kiryuhina E.A., Gerunova L.K. Metabolicheskij alkaloz kak faktor riska poslerodovogo pareza u korov // Vestnik Omskogo GAU. 2024. №4(56). S. 140-149. (In Russ.)
12. Kiryuhina E.A., Gerunova L.K. Patogeneticheskie osnovy profilaktiki rodil'nogo pareza u krupnogo rogatogo skota // Elektronnyj nauchno-metodicheskij zhurnal Omskogo GAU. 2022. №4(31). S. 1. (In Russ.)
13. Kletikova L.V., Mannova M.S., YAKimenko N.N. Metabolicheskie izmeneniya u korov pri mastite i ih dinamika na fone sorbicionnoj terapii // Vestnik KrasGAU. 2021. №7(172). S. 135-142. (In Russ.)
14. Lenkova N.V. Metabolicheskij stress u korov pri rodil'nom pareze // Vestnik Ryazanskogo gosudarstvennogo agrotekhnologicheskogo universiteta im. P.A. Kostycheva. 2022. №2(14). S. 50-56. (In Russ.)
15. Maksimov N.I., Lashin A.P. Analiz racionala i sravnitel'naya ocenka biohimicheskikh pokazatelej krovi u molochnogo skota s razlichnymi formami gipokal'ciemii // Dal'nevostochnyj agrarnyj vestnik. 2021. №2 (58). S. 112-118. (In Russ.)
16. Malkov M.A., Malkov N.V., Dan'kova T.V. Eshche raz pro ketoz. Rol' ketoza v obshchem scenarij razvitiya metabolicheskikh narushenij u korov posle otela // Effektivnoe zhivotnovodstvo. 2023. №2(184). S. 34-36. (In Russ.)
17. Belousov A.I., Krasnoperov A.S., Oparina O.YU., Suzdal'ceva M.A. Metabolicheskie priznaki alimentarnogo ketoza u vysokoproduktivnyh korov // Trudy Vserossijskogo NII eksperimental'noj veterinarii imeni YA.R. Kovalenko. 2018. №1(80). S. 88-100. (In Russ.)
18. Gerunova L.K., Gerunov T.V., SHitikov V.V., Gonohova M.N., Gerunov V.I., Kryuchek YA.O., Tarasenko A.A. Mikotoksiny i eprinomektin: potencial'nye riski pri sochetannom dejstvii na organizm zhivotnyh // Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2023. №1 (49). S. 84-92. (In Russ.)
19. Kisel'nikova O.V., Belova K.YU., Vashakmadze N.D., ZHurkova N.V. Nizkaya shchelochnaya fosfataza, kak marker orfannogo zabolevaniya: fokus na gipofosfataziyu // Poliklinika. 2024. №2. S. 15-21. (In Russ.)
20. Rahimzhanov I.A., Galliev B.H., SHarnina N.M., Dusaeva H.B. Obmen kal'ciya i fosfora v organizme suhostojnyh myasnyh korov pri skarmlivanii razlichnyh urovnej nenasyshchennyh zhirnyh kislot // Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2017. №5(67). S. 176-179. (In Russ.)
21. Bystrova I.YU., Majorova ZH.S., Gerceva K.A., Kiseleva E.V., Lozovanu M.I. Primenenie kal'cievyh bolyusov v zhivotnovodstve // Vestnik Ryazanskogo gosudarstvennogo agrotekhnologicheskogo universiteta im. P.A. Kostycheva. 2021. № 4 (13). S. 33-41. (In Russ.)
22. CHusova G.G. Osobennosti belkovogo obmena u vysokoproduktivnyh korov v usloviyah ekologicheskoy nagruzki // O voprosah i problemah sovremennyh matematicheskikh i estestvennyh nauk: sbornik nauchnyh trudov po itogam mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii. 2015. № 2. S. 63. (In Russ.)
23. Milaeva I.V., Voronina O.A., Zajcev S.YU. Osobennosti metabolizma lak-

- tiruyushchih korov // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic sciences. 2017. №2(62). S. 275-281. (In Russ.)
24. Avdeenko V.S., Makavchik S.A., Safonov D.I. Ocenka dostovernosti markerov prognoza roditel'nogo pareza i zaderzhaniya posleda u korov // Veterinariya i kormlenie. 2024. №5. S. 4-10. (In Russ.)
25. Ashenbrenner A.I., CHekunkova YU.A., Haperskij YU.A. Placentarnaya shchelochnaya fosfataza kak prognosticheskij marker poslerodovyh zabolevanij u korov // Vestnik KrasGAU. 2021. № 7. S. 158-162. (In Russ.)
26. Bystrova I.YU., Kiseleva E.V., Gerceva K.A., Lozovanu M.I. Rasprostranenie i faktory riska razvitiya poslerodovoj gipokalcemii u krupnogo rogatogo skota // Vestnik Ryazanskogo gosudarstvennogo agrotekhnologicheskogo universiteta im. P.A. Kostycheva. 2020. №4(48). S. 10-16. (In Russ.)
27. Efremova O.A., Malikova A.A., Kamyschnikova L.A., Bolhovitina O.A. Sovremennye aspekty diagnostiki i lecheniya giperparatireoza u bol'nyh s hronicheskoy boleznyu pochk // Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Medicina. Farmaciya. 2015. №22(219). S. 12-17. (In Russ.)
28. Cygankov E.M., Men'kova A.A., Kurskaya YU.A. Vliyanie kormovoj dobavki ncg-n-karbamilglutamat na pokazateli obshchego belka i ego frakcij, koncentraciyu mocheviny, kreatinina u suhostojnyh korov i ih potomstva // Vestnik CHuvashskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2024. №2(29). S. 142-147. (In Russ.)
29. Megahed A.A., Hiew M.W.H., Ragland D., Constable P.D. Changes in skeletal muscle thickness and echogenicity and plasma creatinine concentration as indicators of protein and intramuscular fat mobilization in periparturient dairy cows. J Dairy Sci. 2019;102(6):5550-5565. doi: 10.3168/jds.2018-15063. PMID: 30954258.
30. Prahl M.C., Müller C.B.M., Albrecht D., Koch F., Wimmers K., Kuhla B. Hepatic urea, creatinine and uric acid metabolism in dairy cows with divergent milk urea concentrations. Sci Rep. 2022;12(1):17593. doi: 10.1038/s41598-022-22536-y. PMID: 36266429; PMCID: PMC9585098.

УДК: 636.22.28:612.622.089.67

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.357

ОСОБЕННОСТИ КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИМЮЛЛЕРОВА ГОРМОНА И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КОРОВ-ДОНОРОВ В ФОЛЛИКУЛЯРНУЮ ФАЗУ ПОЛОВОГО ЦИКЛА

Козицына А.И.* – канд. ветеринар. наук., доц. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0003-3005-0968), **Карпенко Л.Ю.** – д-р. биол. наук., проф., зав. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0002-2781-5993); **Никитин Г.С.** – канд. ветеринар. наук., доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-2080-2970), **Ачилов В.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий, **Олонцев В.А.** – асп. каф. кормления и разведения животных, **Семенова В.С.** – асп. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

* anna.kozitzyna@yandex.ru

Ключевые слова: крупный рогатый скот, голштинская порода, антимюллеров гормон, лабораторная диагностика, статистика.

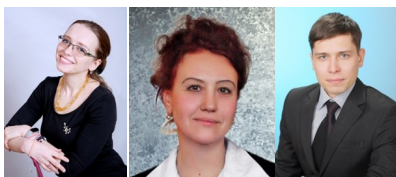
Keywords: cattle, holstein breed, anti-muller hormone, laboratory diagnostics, statistics

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-76-01089, <https://rscf.ru/project/23-76-01089/>.

Поступила: 18.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Определение фолликулярной фазы эстрального цикла является критичной задачей для успешного искусственного осеменения, трансплантации эмбрионов, вымывания яйцеклеток у коров. Существующие методы определения данного периода не идеальны и имеют ряд ограничений. Лабораторная диагностика играет ключевую роль в современном животноводстве. Контроль репродуктивного статуса, мониторинг метаболических процессов, оценка качества кормления – критические точки контроля при проведении, как рутинной диспансеризации, так и специализированных обследований высокоценных животных. В большинстве своем контроль воспроизводства может заключаться в определении уровня прогестерона, диагностики анэструса, а также выявления наиболее оптимального времени осеменения. Одним из маркеров рутинной оценки репродуктивного статуса может стать антимюллеров гормон. Определение уровня антимюллерова гормона (АМГ) представляется перспективным инструментом для контроля репродуктивного статуса, особенно в больших стадах, однако, для более точного понимания требуются дополнительное изучение данного гормона. В представленном исследовании был проведен анализ биохимических показателей крови 9 ко-

ров голштинской породы в фолликулярную фазу. Между показателем уровня АМГ и показателями креатинина и фосфора сыворотки крови была выявлена прямая корреляция высокой степени (0,75 и 0,78 соответственно). Между показателем уровня АМГ и уровнем активности АсАт сыворотки крови была выявлена обратная корреляция заметной степени (-0,63). Изучение синтеза, регуляции и метаболического эффекта АМГ продолжается, данные о его взаимосвязи с другими факторами регуляции ограничены. Для более точного понимания этой корреляции и ее значимости необходимо проведение дополнительных исследований.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Фолликулярная фаза – это период эстрального цикла, характеризующийся ростом и развитием фолликулов в яичнике, начинается после окончания лютеиновой фазы и продолжается до овуляции. Под действием фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) инициируется рост фолликулов, однако, по мере роста доминантного фолликула, уровень ФСГ снижается, в свою очередь, уровень лютеинизирующего гормона (ЛГ), который в начале фолликулярной фазы низкий, постепенно повышается, приводя к формированию желтого тела после созревания и разрыва доминантного фолликула [12]. Также, по мере роста фолликулов, увеличивается и синтез эстрогенов. Прогестерон же в период фолликулярной фазы держится на низких уровнях, что является одним из ключевых моментов для роста и развития фолликулов [1, 2].

Определение фолликулярной фазы полового цикла у коров – это одна из ключевых задач для успешного разведения. При искусственном осеменении данный период важен, так как фолликулярная фаза завершается овуляцией, то есть является наиболее оптимальным периодом для осеменения. Осеменение в правильный момент значительно повышает шансы на успешную стельность. Точное определение времени осеменения позволит сократить количество процедур по осеменению, а значит, сократить и затраты.

В отношении трансплантации эмбрионов, определение фолликулярной фазы позволяет выбрать точное время для трансплантации, в том числе, с учетом степени подготовки эндометрия, а также синхронизации циклов донора и реципиента.

Выявление фолликулярной фазы также критично и для процедуры вымывания яйцеклеток. Важно, чтобы фолликулы достигли определенного уровня зрелости, достаточного размера, а также содержали компетентные яйцеклетки. В некотором роде, фолликулярная фаза является определяющим фактором в успехе процесса вымывания яйцеклеток у коров [4].

Определение фолликулярной фазы требует комбинированного подхода, важно учитывать, что зачастую методы не являются абсолютно точными, поэтому актуальной задачей является поиск и разработка оптимальных, экономически-эффективных, доступных и наиболее точных способов определения фолликулярной фазы полового цикла. Наблюдение за признаками эструса – самый простой, но наименее точный метод. В случае ректального исследования ключевую роль играет опыт ветеринарного специалиста, а точное определение размера и стадии развития фолликулов не всегда представляется возможным [8]. Ультразвуковое исследование – это один из наиболее чувствительных методов, позволяющий оценить размер и количество фолликулов, наличие желтого тела, состояние доминантного фолликула, однако, для проведения данного исследования требуется специальное дорогостоящее оборудование и подготовка специалиста [3]. Таким образом, лабораторная диагностика может стать ключевым фактором, особенно, при наличии значительного числа животных [5, 6, 9].

Лабораторная диагностика играет ключевую роль в современном животноводстве. Контроль репродуктивного статуса, мониторинг метаболических процессов, оценка качества кормления – критические точки контроля при проведении,

как рутинной диспансеризации, так и специализированных обследований высокоценных животных [11, 13]. В большинстве своем контроль воспроизводства может заключаться в определении уровня прогестерона, диагностики анэструса, а также выявления наиболее оптимального времени осеменения. Одним из маркеров рутинной оценки репродуктивного статуса может стать антимюллеров гормон [10, 7].

Антимюллеров гормон (АМГ) не является ключевым регулятором роста фолликулов, как ФСГ и ЛГ, однако, он секретируется клетками гранулёмы растущих фолликулов и отражает количество фолликулов, находящихся на ранних стадиях развития. Уровень АМГ может помочь прогнозировать ответ яичников на стимуляцию и потенциальное количество получаемых яйцеклеток [7].

В настоящий момент механизмы действия АМГ на организм животных в целом и коров в частности изучены недостаточно, кроме того, в отечественной литературе мало данных, затрагивающих использование АМГ в ветеринарии сельскохозяйственных животных, а в свою очередь, применение изменения уровня этого гормона может оказаться крайне полезным. [7] Таким образом, статистическая оценка уровня АМГ и соотношения данного показателя с другими биохимическими параметрами – это актуальная задача.

Целью представленного исследования была статистическая оценка уровня АМГ и биохимических показателей сыворотки крови коров в фолликулярную фазу для последующего выявления наиболее значимых закономерностей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В представленном исследовании был проведен анализ биохимических показателей крови 9 коров голштинской породы. Тип содержания беспривязный, кормление полнорационными кормами, согласно физиологическим потребностям. Все коровы были подвергнуты клиническому осмотру. Забор проб крови осу-

ществлялся из подвостовой вены с соблюдением правил асептики и антисептики.

В сыворотке крови определяли количество общего белка, альбумина, глобулина, мочевины, азота мочевины, креатинина, билирубина, глюкозы, холестерина, общего кальция, фосфора, эстрадиола, прогестерона, тестостерона, антимюллерова гормона (АМГ), а также активность ферментов сыворотки крови: аланинаминотрансферазы (АлАт), аспаратаминотрансферазы (АсАт), щелочной фосфатазы и амилазы по общепринятым методикам. У всех подопытных животных за 4 дня до отбора крови для данного исследования был определен уровень прогестерона. Уровень прогестерона в исследовании ранее был представлен показателем выше 4 нг/мл, что, в совокупности с клиническим осмотром, подтверждало позднюю лютеиновую фазу цикла у данных животных [7]. Также проведено ультразвуковое исследование яичников (оценено состояние желтого тела, размер и количество фолликулов), что подтвердило переход в фолликулярную фазу.

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического, определение стандартного отклонения и степени корреляции (критерий Пирсона) с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Полученные результаты биохимических исследований сыворотки крови, а также результат корреляционного анализа, представлены в таблице 1.

В ходе оценки корреляционных параметров были выявлены следующие зависимости. Между показателем уровня АМГ и показателями креатинина и фосфора сыворотки крови была выявлена прямая корреляция высокой степени (0,75 и 0,78 соответственно). Между показателем уровня АМГ и уровнем активности АсАт сыворотки крови была выявлена обратная корреляция заметной степени (-0,63).

Таблица 1 – Результаты биохимического исследования сыворотки крови коров (n=9, M±m)

Показатель	Ед. изм.	Значение	Коэффициент корреляции (критерий Пирсона) показателей с АМГ
АМГ	пмоль/л	1820,09 ± 1658,65	
Эстрадиол	пмоль/л	646,64 ± 935,89	-0,20
Прогестерон	нмоль/л	4,57 ± 1,94	-0,18
Тестостерон	нмоль/л	1,63 ± 0,87	-0,04
Общий белок	г/л	81,28 ± 8,31	-0,04
Альбумин	г/л	33,33 ± 3,42	0,42
Глобулины	г/л	47,92 ± 9,05	-0,20
Мочевина	ммоль/л	9,63 ± 12,02	0,03
Азот мочевины	ммоль/л	4,49 ± 5,60	0,03
Креатинин	мкмоль/л	62,62 ± 5,30	0,75
Билирубин общий	мкмоль/л	2,48 ± 1,04	-0,45
АлАт	МЕ/л	43,53 ± 4,13	-0,39
АсАт	МЕ/л	104,89 ± 15,11	-0,63
Щелочная фосфатаза	МЕ/л	69,37 ± 17,24	-0,30
Амилаза	МЕ/л	48,66 ± 12,61	-0,33
Глюкоза	ммоль/л	4,12 ± 1,01	0,10
Холестерин	ммоль/л	4,96 ± 0,91	-0,32
Кальций общий	ммоль/л	2,63 ± 0,18	-0,28
Фосфор	ммоль/л	1,95 ± 0,39	0,78

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Уровень АМГ и креатинина сыворотки крови у коров в фолликулярную фазу эстрального цикла предположительно могут коррелировать в результате усиления процессов, связанных с подготовкой репродуктивной системы к овуляции и возможной беременности и, как следствие усиление процессов, направленных на энергетический обмен мышечной системы, участником которого является креатинин. Корреляция между уровнем АМГ и содержанием фосфора может говорить о повышении энергозатрат на рост фолликулов, усилением реакций фосфорилирования.

На усиление обменных процессов, а также синтеза белка, может указывать и взаимосвязь уровней АМГ и активности фермента АсАт сыворотки крови, связанного не только с синтезом и распадом аминокислот, но и с такими ключевыми процессами, как цикл трикарбоновых кислот.

Изучение синтеза, регуляции и метаболического эффекта АМГ продолжается, данные о его взаимосвязи с другими факторами регуляции ограничены. Для более точного понимания этой корреляции и ее значимости необходимо проведение дополнительных исследований.

ANTIMULLER HORMONE CONCENTRATION AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD IN DONOR COWS DURING THE FOLLICULAR PHASE OF THE REPRODUCTIVE CYCLE

Kozitcyna A.I.* – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor (ORCID 0000-0003-3005-0968), **Karpenko L.Yu.** – Doctor of Biological Sciences, Professor (ORCID 0000-0002-2781-5993); **Nikitin G.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor (ORCID 0000-0002-2080-2970), **Achilov V.V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant, **Olontsev V.A.** – postgraduate student, **Semenova V.S.** – postgraduate student.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* anna.kozitzyna@yandex.ru

The research was financially supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 23-76-01089), <https://rscf.ru/project/23-76-01089/>

ABSTRACT

Determining the follicular phase of the estrous cycle is a critical task for successful artificial insemination, embryo transplantation, and egg washing in cows. The existing methods for determining this period are not ideal and have a number of limitations. Laboratory diagnostics plays a key role in modern animal husbandry. Monitoring of reproductive status, monitoring of metabolic processes, and assessment of feeding quality are critical control points during both routine medical examinations and specialized examinations of high-value animals. For the most part, reproduction control may consist in determining progesterone levels, diagnosing anestrus, and identifying the most optimal time for insemination. One of the markers of routine assessment of reproductive status may be the anti-muller hormone. Determining the level of anti-Muller hormone (AMH) seems to be a promising tool for monitoring reproductive status, especially in large herds, however, additional study of this hormone is required for a more accurate understanding. In the presented study, the biochemical parameters of the blood of 9 Holstein cows in the follicular phase were analyzed. A high degree of direct correlation was found between the AMH level and serum creatinine and phosphorus levels (0.75 and 0.78, respectively). An inverse correlation of a noticeable degree (-0.63) was found between the level of AMH and the level of serum AsAt activity. The study of the synthesis, regulation and metabolic effect of AMH continues, data on its relationship with other regulatory factors are limited. Additional research is needed to better understand this correlation and its significance.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бугров, А. Д. Рост и развитие фолликулов при спонтанном и индуцированных половых циклах у коров простагландином (ПГФ 2 α), нативным и пролонгированным ФСГ / А. Д. Бугров // Научно-технический бюллетень Института животноводства Национальной академии аграрных наук Украины. – 2011. – № 105. – С. 24-37. – EDN SLQXEH.
2. Вшивцева, А. И. Нейрогуморальная регуляция половой функции у КРС и ее связь с патологией яичников / А. И. Вшивцева, Н. Б. Никулина // Молодёжная наука 2024: технологии инновации : Материалы Всероссийской научно-практической конференции, молодых учёных, аспирантов и студентов, посвящённой Десятилетию науки и технологий в Российской Федерации. В 4-х частях, Пермь, 08–12 апреля 2024 года. – Пермь: ИПЦ Прокрость, 2024. – С. 24-27. – EDN IDJRLR.
3. Мачахтыров, Г. Н. Исследование функционального состояния яичников коров методом ультразвукового сканирования / Г. Н. Мачахтыров, В. А. Мачахтырова // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34, № 1. – С. 48-51. – DOI 10.24411/0235-2451-2020-10109. – EDN JJNZPT.
4. Модификация этапов технологии витрификации ооцитов *Bos taurus* / Т. И. Кузьмина, И. В. Чистякова, И. П. Шейко, А. И. Ганджа // Таврический вестник аграрной науки. – 2017. – № 3(11). – С. 80-87. – EDN ZWQSTJ.
5. Немцова, А. С. Влияние препарата "Сурфагон 50" на фолликулогенез у коров в период лактации / А. С. Немцова, А. А. Гарбузов, Е. А. Юшковский // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 1. – С. 147-149. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.1.147. – EDN CJRKHX.
6. Репродуктивная функция коров (*Bos taurus*) под влиянием различных кисспептинов (обзор) / Г. В. Ширяев, А. О. При-тужалова, Г. С. Никитин [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2023. – Т. 58, № 6. – С. 974-989. – DOI 10.15389/

agrobiology.2023.6.974rus. – EDN ZUGHAQ.

7. Статистическая оценка концентрации антимюллерова гормона и биохимических показателей крови коров-доноров в лютеиновую фазу цикла / А. И. Козицына, Л. Ю. Карпенко, Г. С. Никитин [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 221-226. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.221. – EDN GUMSBK.

8. Хуснетдинова, Н. Ф. Подход к диагностике суягности у овец / Н. Ф. Хуснетдинова, Б. С. Иолчиев // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2022. – Т. 11, № 1. – С. 219-222. – DOI 10.48612/sbornik-2022-1-54. – EDN GUOCQM.

9. Blood biochemical markers in Saanen goats depending on month of pregnancy / A. Taraskin, A. Bakhta, L. Karpenko [et al.] // FASEB Journal. – 2021. – Vol. 35, No. S1. – P. 05198. – DOI 10.1096/fasebj.2021.35.S1.05198. – EDN JSVGFR.

10. Mossa, Francesca, and James J Ireland. "Physiology and endocrinology symposium: Anti-Müllerian hormone: a biomarker for the ovarian reserve, ovarian function, and fertility in dairy cows." Journal of animal science vol. 97,4 (2019): 1446-1455. doi:10.1093/jas/skz022.

11. Mycotoxin eliminator "Elitox" in lasttrimester pregnant cows application impact on immune blood profile of offspring / A. Kozitsyna, L. Karpenko, A. Bakhta [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2018. – Vol. 53, No. S2. – P. 153. – EDN YKVLIT.

12. Naniwa Y., Nakatsukasa K., Setsuda S., Oishi S., Fujii N., Matsuda F., Uenoyama Y., Tsukamura H., Maeda K.-i., Ohkura S. Effects of full-length kisspeptin administration on follicular development in Japanese black beef cows. Journal of Reproduction and Development, 2013, 59(6): 588-594 (). DOI: 10.1262/jrd.2013-064

13. Pregnant Cows and Heifers Blood Profile Comparison / A. I. Kozitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta [et al.] // International scientific and practical conference "Agro-SMART - Smart solutions for agricul-

ture" (Agro-SMART 2018), Tyumen, 16–20 июля 2018 года. Vol. 151. – Tyumen: Atlantis Press, 2018. – P. 391-396. – EDN ZCDCWT.

REFERENCES

1. Bugrov, A.D. Growth and development of follicles in spontaneous and induced sexual cycles in cows with prostaglandin (PGF2 α), native and prolonged FSH / A.D. Bugrov // Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Animal Husbandry of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine. – 2011. – No. 105. – pp. 24-37. – EDN SLQXEH.

2. Vshivtseva, A. I. Neurohumoral regulation of sexual function in cattle and its relation to ovarian pathology / A. I. Vshivtseva, N. B. Nikulina // Youth Science 2024: technologies of innovation : Proceedings of the All-Russian scientific and practical conference of young scientists, graduate students and students dedicated to the Decade of Science and Technology in the Russian Federation. In 4 parts, Perm, April 08-12, 2024. – Perm: CPI Procrust, 2024. – pp. 24-27. – EDN IDJRLR.

3. Machakhtyrov, G. N. Investigation of the functional state of cow ovaries by ultrasound scanning / G. N. Machakhtyrov, V. A. Machakhtyrova // Achievements of science and technology of the agroindustrial complex. – 2020. – Vol. 34, No. 1. – pp. 48-51. – DOI 10.24411/0235-2451-2020-10109. – EDN JJNZPT.

4. Modification of the stages of vitrification technology of Bos taurus oocytes / T. I. Kuzmina, I. V. Chistyakova, I. P. Sheiko, A. I. Ganzha // Tauride Bulletin of Agrarian Science. – 2017. – № 3(11). – Pp. 80-87. – EDN ZWQSTJ.

5. Nemtsova, A. S. The effect of the drug "Surfagon 50" on folliculogenesis in cows during lactation / A. S. Nemtsova, A. A. Garbuzov, E. A. Yushkovsky // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2020. – No. 1. – pp. 147-149. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.1.147. – EDN CJRKHX.

6. Reproductive function of cows (Bos taurus) under the influence of various kisspep-

- tins (review) / G. V. Shiryayev, A. O. Prituzhalova, G. S. Nikitin [et al.] // *Agricultural Biology*. – 2023. – Vol. 58, No. 6. – pp. 974-989. – DOI 10.15389/agrobiology.2023.6.974rus. – EDN ZUGHAQ.
7. Statistical assessment of the concentration of antimüller hormone and biochemical parameters of blood of donor cows in the luteal phase of the cycle / A. I. Kozitsyna, L. Y. Karpenko, G. S. Nikitin [et al.] // *International Bulletin of Veterinary Medicine*. – 2023. – No. 4. – pp. 221-226. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.221. – EDN GUMSBK.
8. Khusnetdinova, N. F. An approach to the diagnosis of obesity in sheep / N. F. Khusnetdinova, B. S. Ilchiev // *Collection of scientific papers of the Krasnodar Scientific Center for Animal Science and Veterinary Medicine*. – 2022. – Vol. 11, No. 1. – pp. 219-222. – DOI 10.48612/sbornik-2022-1-54. – EDN GUOCQM.
9. Blood biochemical markers in Saanen goats depending on month of pregnancy / A. Taraskin, A. Bakhta, L. Karpenko [et al.] // *FASEB Journal*. – 2021. – Vol. 35, No. S1. – P. 05198. – DOI 10.1096/fasebj.2021.35.S1.05198. – EDN JSVGFR.
10. Mossa, Francesca, and James J Ireland. "Physiology and endocrinology symposium: Anti-Müllerian hormone: a biomarker for the ovarian reserve, ovarian function, and fertility in dairy cows." *Journal of animal science* vol. 97,4 (2019): 1446-1455. doi:10.1093/jas/skz022.
11. Mycotoxin eliminator "Elitox" in lasttrimester pregnant cows application impact on immune blood profile of offspring / A. Kozitsyna, L. Karpenko, A. Bakhta [et al.] // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2018. – Vol. 53, No. S2. – P. 153. – EDN YKVLIT.
12. Naniwa Y., Nakatsukasa K., Setsuda S., Oishi S., Fujii N., Matsuda F., Uenoyama Y., Tsukamura H., Maeda K.-i., Ohkura S. Effects of full-length kisspeptin administration on follicular development in Japanese black beef cows. *Journal of Reproduction and Development*, 2013, 59(6): 588-594 (). DOI: 10.1262/jrd.2013-064
13. Pregnant Cows and Heifers Blood Profile Comparison / A. I. Kozitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta [et al.] // *International scientific and practical conference "Agro-SMART - Smart solutions for agriculture" (Agro-SMART 2018), Tyumen, July 16-20, 2018. Vol. 151. – Tyumen: Atlantis Press, 2018. – P. 391-396. – EDN ZCDCWT.*



ХИРУРГИЯ

УДК: 576.524:612.111.7

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.2.364

СРАВНИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОБРАЗЦОВ КРОВИ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ЦИТРАТОМ НАТРИЯ, ЭДТА ИЛИ ГЕПАРИНОМ, К АГРЕГАЦИИ В ОТВЕТ НА АКТИВАЦИЮ НЕКОТОРЫМИ АГОНИСТАМИ

Минина А.О. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-4176-4053); **Бокарев А.В.** – д-р ветеринар. наук, доц. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-4623-5388); **Холодный Р.Д.** – соиск. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-2906-4716).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*bluzma-nast@yandex.ru

Ключевые слова: тромбоциты, антикоагулянты, тромбоцитарная плазма, активация, агрегация, регенеративная терапия, тромбин, тромбоксан-A2.

Keywords: platelets, anticoagulants, platelet plasma, activation, aggregation, regenerative therapy, thrombin, thromboxane-A2.

Поступила: 28.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Исследована способность к активации тромбоцитов, выделенных из образцов крови стабилизированных цитратом натрия, ЭДТА или гепарином и находящихся в плазме, содержащей тот же антикоагулянт. Тромбоциты, находящиеся в плазме, индуцировали к активации *in vitro* путем добавления таких агонистов как адреналин, тромбин или тромбин+тромбоксан-A2. В качестве маркера активации использовали способность тромбоцитов образовывать агрегаты, которые визуализировали микроскопически в фазовом контрасте. Исследования показали, что тромбоциты выделенные из образцов крови стабилизированных любым из выше указанных антикоагулянтов не агрегировали в ответ на добавление адреналина. Тромбоциты, выделенные из крови, стабилизированной цитратом натрия и ЭДТА, сохраняли способность к агрегации после рекальцификации плазмы, но не агрегировали в ответ на добавление тромбина. Но тромбоциты, выделенные из крови, стабилизированной цитратом натрия, в отличие от тром-

боцитов, выделенных из крови, стабилизированной ЭДТА агрегировали в ответ на добавление тромбина вместе с тромбоксаном-A2. Тромбоциты, выделенные из крови стабилизированной гепарином умеренно агрегировали на активацию тромбином и очень сильно на активацию тромбин + тромбоксан-A2. Результаты исследования, полученные в модели *in vitro*, свидетельствуют о том, что тромбоциты, выделенные из образцов крови стабилизированных цитратом натрия или ЭДТА, после их введения в ткани пациента в составе плазмы содержащей тот же антикоагулянт, смогут активироваться и реализовать свой регенеративный потенциал только при условии быстрой рекальцификации. А тромбоциты, полученные в форме плазмы, обогащенной тромбоцитами из образцов крови стабилизированных гепарином, смогут активироваться и реализовать свой регенеративный потенциал только в том случае, если введенный антикоагулянт не будет препятствовать процессам плазменного и тромбоцитарного гемостаза в месте введения и, соответственно синтезу тромбина и тромбоксана-A2.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одним из перспективных методов регенеративной медицины является PRP-терапия. PRP это аббревиатура от *platelet-rich plasma*, что в переводе с английского означает плазму, обогащенную тромбоцитами [1, 2]. Такую плазму невозможно получить из нестабилизированной крови. Так как нестабилизированная кровь образует сгустки еще до того, как плазма с тромбоцитами будет отделена от эритроцитов и лейкоцитов путем центрифугирования. Поэтому в кровь добавляют антикоагулянты, такие как цитрат натрия, гепарин или ЭДТА [3]. Механизмы антикоагулянтного действия цитрата натрия, гепарина и ЭДТА отличаются. И они по-разному влияют не только на плазму, но и на тромбоциты [4]. Исходя из выше сказанного можно предположить, что тромбоциты полученные из образцов крови стабилизированных разными антикоагулянтами и более того находящиеся в плазме с тем же антикоагулянтом, с точки зрения активации и высвобождения факторов роста, могут по-разному реагировать на эндогенные агонисты после попадания в организм пациента. Соответственно и терапевтические результаты от такого введения могут отличаться. На сегодняшний день, многочисленные исследования, проведенные *in vitro* на тромбоцитах крыс, свиней, лошадей и человека демонстрируют, противоречивые данные на предмет морфологической и функциональной сохранности тромбоцитов (в том числе на способность сохранять и выделять факторы роста) в зависимости

от того какой антикоагулянт был использован при их выделении из цельной крови [1]. Таким образом на настоящий момент времени не существует бесспорных и объективных данных о том, какой из антикоагулянтов в наименьшей степени препятствует, тем функциям тромбоцитов, которые обеспечивают их регенеративный потенциал. А это в свою очередь ограничивает понимание того, какой из антикоагулянтов предпочтительнее использовать при получении плазмы, обогащенной тромбоцитами для последующего проведения PRP терапии. Исследования, проводимые *in vivo*, т.е., в условиях клинического эксперимента так же не дают ответа на поставленный вопрос, поскольку серьезные сообщения о связи между выбором антикоагулянта и клиническими эффектами PRP терапии отсутствуют [1]. Более того, в публикациях о результатах клинических исследований такой аргумент как выбор антикоагулянта практически игнорируется. Одни исследователи без объяснения своего выбора используют цитрат натрия [5, 6, 7, 8, 9], другие гепарин [10,11], а третьи ЭДТА [12, 13, 14, 15]. Проблема объективной оценки влияния вида антикоагулянта на клинический результат PRP-терапии усугубляется ещё и тем, что в части исследований такая плазма вводится пациенту без предварительной активации [5, 6, 10, 11, 12]. При этом видимо предполагается, что тромбоциты, введенные пациенту, будут активироваться *in situ* благодаря контакту с предсуществующими эндогенными активаторами такими как кальций и адрена-

лин и/или индуцируемыми активаторами как тромбин и тромбосан-A2 синтезирующимися в микрогематомах вокруг сосудов, поврежденных инъекционной иглой [16]. В других случаях такие активаторы (обычно кальций, тромбин и адреналин) добавляли в плазму, обогащенную тромбоцитами перед введением [7]. Но ни в первом, ни во втором случае авторы исследований так же никак не аргументировали свои действия. Анализ всего выше изложенного логично подводит к тому, что для дальнейшего эффективного и научно-обоснованного использования плазмы, обогащенной тромбоцитами в PRP-терапии необходимо выяснить, могут ли вообще тромбоциты, выделенные из крови, стабилизированной цитратом натрия, гепарином или ЭДТА и находящиеся в плазме с соответствующими антикоагулянтами индуцироваться к активации агонистами, которые имеются или могут появиться в месте введения плазмы, обогащенной тромбоцитами в ткани пациента. Очевидно, что объективный результат такого исследования может быть получен только в замкнутой системе *in vitro*, где отсутствует влияние макроорганизма на инактивацию антикоагулянтов или снижение их концентрации путем диффузии в системный кровоток.

С клинической точки зрения результат подобного исследования может стать рекомендацией к тому, какой конкретно агонист или агонисты, причем в строгой корреляции с тем с каким антикоагулянтом была получена плазма, обогащенная тромбоцитами и в присутствии, которого она была инъецирована пациенту, целесообразно использовать, для её активации.

Цель исследования – определить способность тромбоцитов, выделенных из крови, стабилизированной такими антикоагулянтами как цитрат натрия, гепарин или ЭДТА и находящимися в соответствующей антикоагулянтной среде проявлять, такой начальный признак активации как агрегация при контакте с классическими агонистами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования были тромбоциты, выделенные из крови крыс линии Вистар (n=50). Забор крови (по 1.0 - 2.0 мл от каждого животного) осуществляли из хвостовой вены. Манипуляции по взятию крови выполняли под севотруновым наркозом. Взятую кровь помещали в пробирки с цитратом натрия, ЭДТА и гепарином. Подсчет клеточных элементов в крови и в тромбоцитарной плазме проводили на гематологическом анализаторе МЕК-6550. Плазму, обогащенную тромбоцитами, получали методом, адаптированным к малым объемам крови (Патент на изобретение RU 2789518 C1). В качестве активаторов тромбоцитарной агрегации использовали адреналин, тромбин и смесь тромбина с тромбосаном A2. Аптечный адреналин (1 мг адреналина – 5.5 мкмоль/мл) разводили с физиологическим раствором в соотношении 4.8 мл физиологического раствора + 0.2 мл адреналина. Получали рабочий раствор, содержащий 20 мкг адреналина в 1 мл (0.11 мкмоль/мл). В качестве тромбина использовали сыворотку, приготовленную из бесклеточной цитрированной плазмы путем ее рекальцификации. В качестве источника смеси тромбина с тромбосаном A2 использовали сыворотку, приготовленную из тромбоцитарной цитрированной плазмы путем ее рекальцификации. Образцы тромбоцитарной плазмы смешивали с активаторами. К 0.45 мл тромбоцитарной плазмы добавляли 0.05 мл активатора. Образцы перемешивали. В количестве 0.05 мл помещали на предметное стекло. Накрывали покровным стеклом и исследовали агрегацию. Способность тромбоцитов к агрегации определяли качественным экспресс-методом визуальной оценки на предметном стекле по методу А. С. Шитиковой наблюдая процесс под фазовым контрастом. В качестве количественных и качественных характеристик агрегации использовали размер и плотность скоплений тромбоцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Согласно результатам исследования, полученным при помощи светооптической микроскопии в фазовом контрасте, ни в одном из образцов плазмы, обогащенной тромбоцитами приготовленных из крови стабилизированных такими антикоагулянтами как цитрат натрия, гепарин и ЭДТА не наблюдалось признаков спонтанной агрегации тромбоцитов (Рисунок 1).

При добавлении к полученным образцам плазмы, обогащенной тромбоцитами кальция, адреналина или двух образцов сыворотки, сыворотки полученной из безтромбоцитарной плазмы и сыворотки полученной из тромбоцитарной плазмы, были получены следующие результаты.

Тромбоциты, полученные из крови, стабилизированной цитратом натрия и

находящиеся в замкнутой системе *in vitro* в цитрированной плазме, не агрегировали ни при добавлении адреналина, ни при добавлении сыворотки полученной из безтромбоцитарной плазмы (Рисунок 2а). При добавлении к цитрированной тромбоцитарной плазме сыворотки, полученной из плазмы, обогащенной тромбоцитами, наблюдалась слабая стимуляция агрегации. Которая проявлялась только через 15 – 20 минут и визуализировалась как небольшие рыхлые агрегаты. Тромбоциты, внутри которых не плотно прилегали друг к другу (Рисунок 2б-в). При рекальцификации цитрированной плазмы, обогащенной тромбоцитами добавлением хлористого кальция, практически сразу визуализировалась агрегация тромбоцитов в виде плотных скоплений средней величины (Рисунок 2).

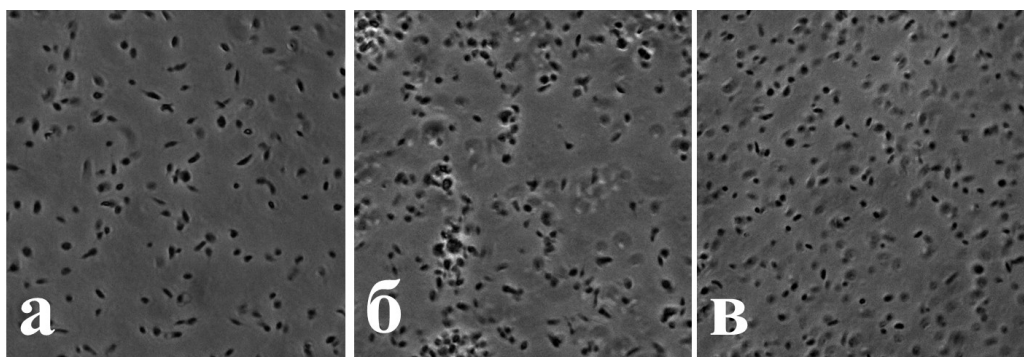


Рисунок 1 – Внешний вид тромбоцитов, выделенных из образцов крови стабилизированных разными антикоагулянтами; а – тромбоциты, выделенные из крови стабилизированной цитратом натрия; б - тромбоциты, выделенные из крови стабилизированной гепарином; в - тромбоциты, выделенные из крови, стабилизированной ЭДТА. (Фазовый контраст. Увеличение $\times 400$).

Тромбоциты, полученные из крови, стабилизированной ЭДТА, и так же находящиеся в замкнутой системе *in vitro* в плазме с тем же антикоагулянтом, не агрегировали ни при добавлении адреналина (Рисунок 3а), ни при добавлении сыворотки полученной из безтромбоцитарной плазмы (Рисунок 3б), ни при добавлении сыворотки полученной из тромбоцитарной плазмы (Рисунок 3в). Но при рекаль-

цификации добавлением хлористого кальция, тромбоциты ЭДТА- плазмы, практически сразу образовывались агрегаты средней величины. Однако эти агрегаты были представлены тромбоцитами, не образующими между собой плотных контактов (Рисунок 3г). И значительная часть тромбоцитов не была вовлечена в формирование таких агрегатов и оставалась в свободном дискретном состоянии.

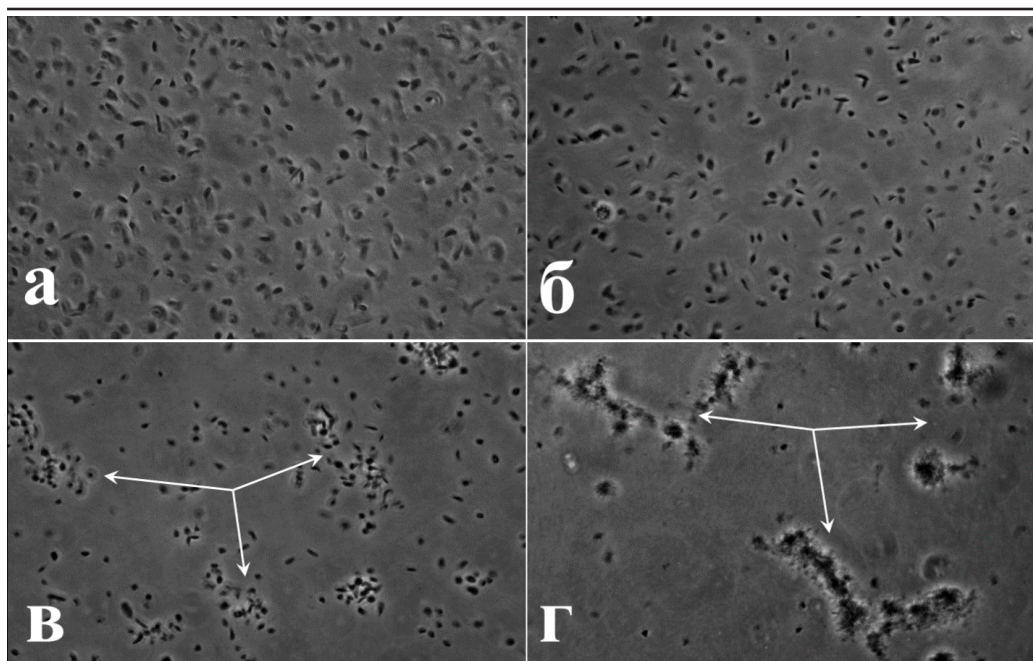


Рисунок 2 – Способность к агрегации тромбоцитов, выделенных из крови стабилизированной цитратом натрия и находящихся в цитрированной плазме, в ответ на некоторые агонисты активации; а – сходная картина отсутствия агрегации тромбоцитов в плазме после добавления адреналина и после добавления сыворотки приготовленной из безтромбоцитарной плазмы (источника тромбина); б – отсутствие агрегации тромбоцитов сразу после добавления сыворотки приготовленной из тромбоцитарной плазмы (источника тромбина и тромбосана-А2); в – появление небольших тромбоцитарных агрегатов через 20 минут после добавления сыворотки приготовленной из тромбоцитарной плазмы (источника тромбина и тромбосана-А2); г – появление тромбоцитарных агрегатов средней величины сразу после добавления кальция. (Фазовый контраст. Увеличение $\times 400$).

Тромбоциты, полученные из крови, стабилизированной гепарином и находящиеся в гепаринизированной плазме, не показали агрегации под воздействием такого агониста как адреналин (Рисунок 4а). При добавлении к тромбоцитам гепаринизированной плазмы сыворотки, полученной из безтромбоцитарной плазмы, визуализировалась слабая агрегация. Которая наступала только через 15 – 20 минут и была представлена мелкими и средними скоплениями, в которых тромбоциты не плотно прилегали друг к другу и визуализировались как отдельные клеточные элементы (Рисунок 4б-в). При добавлении к гепаринизированной плаз-

ме, обогащенной тромбоцитами сыворотки, полученной из тромбоцитарной плазмы, возникала быстрая и сильная агрегация тромбоцитов, представленная крупными скоплениями клеточных элементов, сливающимися друг с другом в сплошную практически однородную массу (Рисунок 4г).

Метод исследования количественных и качественных характеристик агрегации тромбоцитов, а также, определение скорости их образования, называется агрегатометрией. Агрегатометрия используется как метод определения функциональной способности самих тромбоцитов активироваться в ответ на действие стандартных

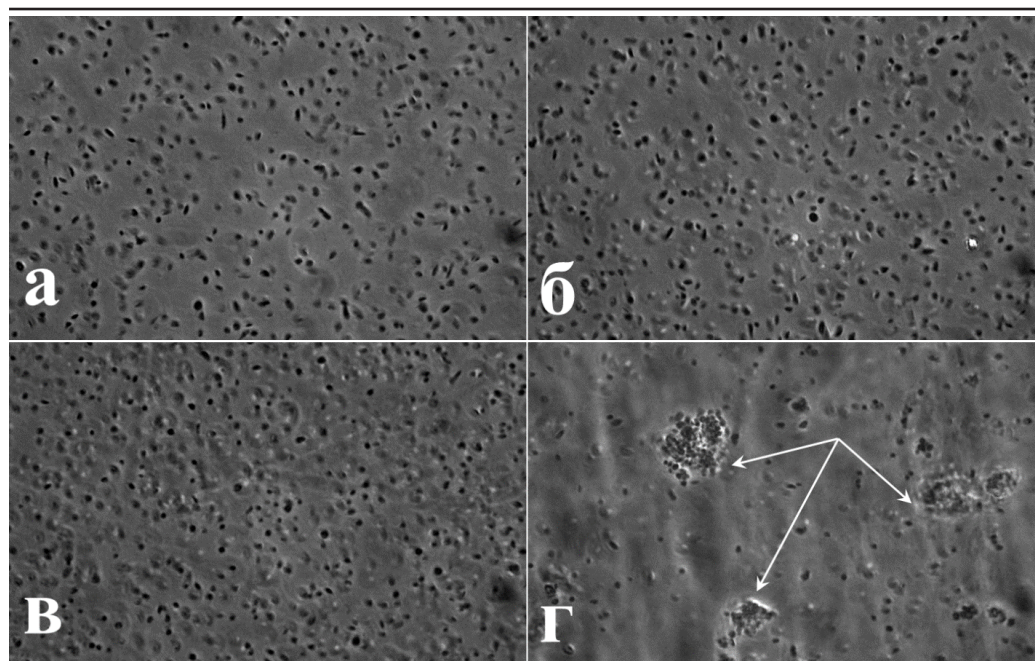


Рисунок 3 – Способность к агрегации тромбоцитов, выделенных из крови стабилизированной ЭДТА и находящихся в цитрированной плазме, в ответ на некоторые агонисты активации; а – отсутствия агрегации тромбоцитов после добавления адреналина; б - отсутствия агрегации тромбоцитов после добавления сыворотки приготовленной из безтромбоцитарной плазмы (источника тромбина); в – отсутствие агрегации тромбоцитов после добавления сыворотки приготовленной из тромбоцитарной плазмы (источника тромбина и тромбоксана-А2); г – появление тромбоцитарных агрегатов средней величины сразу после добавления кальция. (Фазовый контраст. Увеличение $\times 400$).

агонистов. А также с целью исследования различных биологически активных веществ на предмет их способности выступать в качестве агонистов тромбоцитарной активации.

Представленные результаты исследования показали, что, тромбоциты, выделенные из образцов крови с цитратом натрия, ЭДТА или гепарином и находящиеся в плазме с тем же антикоагулянтом, в условиях *in vitro* проявили сходство только в том, что не индуцировались к активации (т.е., не агрегировали) в ответ на действие такого агониста как адреналин. Потенциальная способность к активации, выраженная в агрегации под

воздействием других агонистов, у тромбоцитов, выделенных из крови, стабилизированной вышеуказанными антикоагулянтами, отличалась или качественно, и/или количественно (Таблица 1).

Тромбоциты выделенные из образцов крови стабилизированных такими декальцинирующими антикоагулянтами как цитрат натрия и ЭДТА, и находящиеся в замкнутой системе *in vitro* в соответствующей плазме, проявили сходство в том, что не агрегировали под воздействием такого активатора как сыворотка, полученная из безтромбоцитарной плазмы (Рисунок 2а; Рисунок 3а, б).

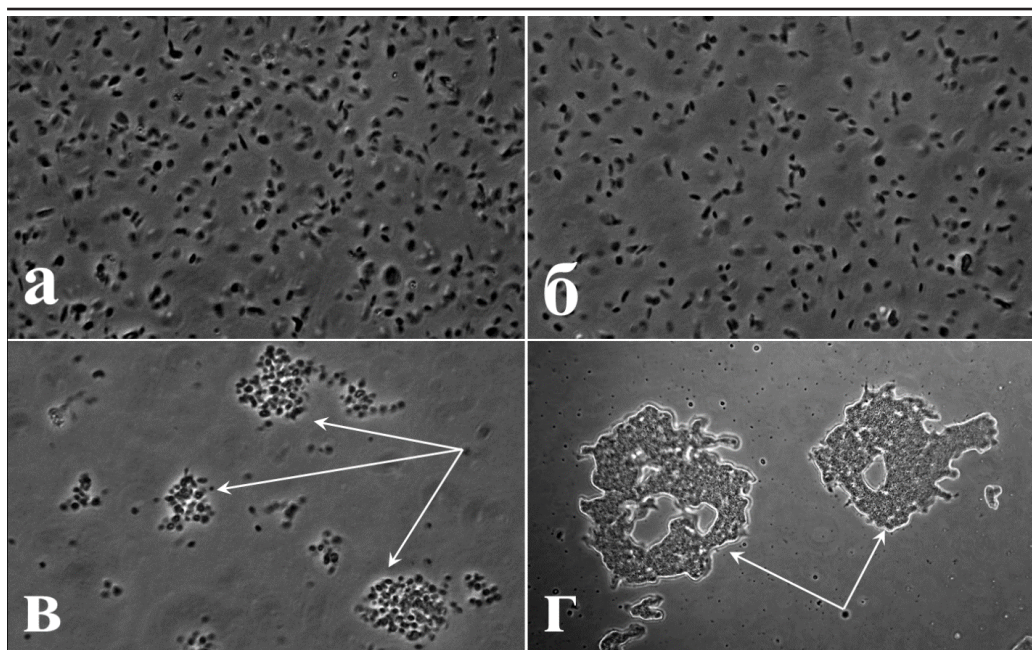


Рисунок 4 – Способность к агрегации тромбоцитов, выделенных из крови стабилизированной гепарином и находящихся в гепаринизированной плазме, в ответ на некоторые агонисты активации; а – отсутствие агрегации тромбоцитов в плазме после добавления кальция или адреналина; б – отсутствие агрегации тромбоцитов сразу после добавления сыворотки приготовленной из безтромбоцитарной плазмы (источника тромбина); в – появление тромбоцитарных агрегатов через 15 минут после добавления сыворотки приготовленной из безтромбоцитарной плазмы (источника тромбина); г – появление тромбоцитарных агрегатов сразу после добавления сыворотки приготовленной из тромбоцитарной плазмы (источника тромбина и тромбоксана-A2). (Фазовый контраст. Увеличение $\times 400$).

Таблица 1 – Сравнительная агрегация тромбоцитов, выделенных из образцов крови стабилизированных различными антикоагулянтами, в ответ на различные активаторы

	Кальций	Адреналин	Сыворотка из безтромбоцитарной плазмы (тромбин)	Сыворотка из тромбоцитарной плазмы (тромбин+Тр-A2)
Цитратная-ПОТ	++	-	-	$\pm^*$
ЭДТА-ПОТ	++	-	-	-
Гепарин-ПОТ	-	-	$\pm^*$	+++
«-» - полное отсутствие признаков агрегации. «+» - мелкие агрегаты Тр и наличие большого количества неагрегированных Тр. «++» - агрегаты Тр средней величины и наличие неагрегированных Тр. «+++» - крупные агрегаты Тр и отсутствие неагрегированных Тр. * - появление мелких агрегатов Тр после 10 минутного инкубирования при $t = +37.0^{\circ}\text{C}$.				

Учитывая, что в сыворотке, полученной из полностью бесклеточной плазмы, в процессе ферментативного каскада свертывания появляется такой стимулятор тромбоцитарной активации как тромбин, можно заключить, что декальцификация делает тромбоциты нечувствительными к активации данным агонистом. Рекальцификация обоих образцов тромбоцитарной плазмы, практически сразу индуцирует находящиеся в них клетки к агрегации (Рисунок 2г; Рисунок 3г). Но, в то же время результаты исследования показывают, что ЭДТА сильнее подавляет способность тромбоцитов к активации, чем цитрат натрия. Это проявляется в том, что тромбоциты из ЭДТА-плазмы, в сравнении с тромбоцитами из цитрированной плазмы, при рекальцификации образуются агрегаты с менее плотными межклеточными контактами (Рисунок 2г; Рисунок 3г). А также, в том, что тромбоциты, полученные из крови, стабилизированной цитратом натрия, в отличие от тромбоцитов, полученных из крови, стабилизированной ЭДТА, хоть и слабо, но агрегируют в ответ на добавление к ним сыворотки приготовленной из тромбоцитарной плазмы, (Рисунок 2б, в; Рисунок 3в). А учитывая, что сыворотка, приготовленная из тромбоцитарной плазмы кроме тромбина, содержит еще и тромбосан-А2, образующийся в тромбоцитах и являющийся их мощным аутокринным и паракринным стимулятором [6, 7], логично заключить, что цитрат натрия (в отличие от ЭДТА) не способен полностью подавить способность тромбоцитов к активации в ответ на суммарное действие этих двух агонистов. Более сильное негативное влияние ЭДТА на способность тромбоцитов к активации, вероятно, является следствием того, что ЭДТА имеет очень высокую константу связывания с кальцием. Значительно выше, чем у цитрата натрия. А это в свою очередь может усилить конкурентную роль магния, который замещая кальций, не только подавляет активность таких факторов свертывания как № II, № VII, № VIII, № IX, № X, № XI, № XIII, но и уменьшает актив-

ность непосредственно тромбоцитов. В том числе за счет ингибирования каскада арахидоновой кислоты и, соответственно, снижения уровня синтеза тромбосана-А2 [17, 18]. В противоположность ЭДТА-тромбоцитарной плазмы, для цитрированной плазмы, обогащенной тромбоцитами связывание экстрацеллюлярного кальция, является только относительным ограничивающим фактором активации тромбоцитов. Поскольку, как показано, хоть и с задержкой, но такой начальный признак активации тромбоцитов как агрегация индуцируется комбинацией тромбина и тромбосаном-А2 даже без рекальцификации (Рисунок 2б, в). Можно предположить, что для совокупного действия перечисленных агонистов достаточно того кальция, который депонирован внутри самих тромбоцитов.

Способность к начальным признакам активации в форме агрегации у тромбоцитов, полученных из крови, стабилизированной гепарином и находящиеся в замкнутой системе *in vitro* в гепаринизированной плазме, как уже было указано выше, отличается от агрегационной способности тромбоцитов, полученных вместе с плазмой из декальцинированной крови (Таблица 1). Это отличие состоит в том, что у них сохраняется способность образовывать агрегаты в ответ на тромбин (сыворотка, полученная из безтромбоцитарной плазмы) (Рисунок 4в). А также тем, что они очень сильно агрегируют в ответ на комбинацию тромбина с тромбосаном-А2, (сыворотка, полученная из тромбоцитарной плазмы) (Рисунок 4г). Обращает на себя внимание то, что степень выраженности агрегации у тромбоцитов гепаринизированной плазмы, в ответ на комбинацию тромбина с тромбосаном-А2 значительно выше той, которую визуализируют тромбоциты из цитрированной плазмы, и ЭДТА- плазмы, в ответ на рекальцификацию (Рисунок 4г; Рисунок 2г; Рисунок 3г). И это, не смотря на то что тромбоциты цитрированной плазмы и ЭДТА- плазмы агрегируют не на сам кальций (кальций не является агонистом), а на те же тромбин с тромбоса-

ном-A2 синтез которых становится возможным после рекальцификации. Так же тромбоциты гепаринизированной плазмы, демонстрируют степень агрегации в ответ только на один тромбин, более выраженную чем тромбоциты цитрированной плазмы в ответ на двойную активацию тромбином с тромбоксаном-A2 (Рисунок 4в; Рисунок 2в). Что, видимо, связано с тем, что внеклеточные и внутриклеточные механизмы активации тромбоцитов гепаринизированной плазмы не подавлены абсолютным уменьшением кальция и относительным увеличением магния. Таким образом, еще раз подтверждается то, что отсутствие или понижение концентрации кальция является сильным, и возможно основным фактором, лимитирующим активацию тромбоцитов. С другой стороны, это является свидетельством того, что тромбоцитам, выделенным из крови, стабилизированной гепарином и инъецируемым пациенту в форме гепаринизированной плазмы, обогащенной тромбоцитами, для активации, и соответственно, секреции факторов роста, требуется стимуляция тромбином и тромбоксаном-A2.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1. Тромбоциты полученные из образцов крови стабилизированных цитратом натрия, ЭДТА или гепарином и находящиеся в плазме, содержащей тот же антикоагулянт, сохраняют потенциальную способность к агрегации. Что означает то, что они способны к активации и, соответственно, по средству высвобождения факторов роста, к реализации своего регенеративного потенциала.

2. Для тромбоцитов, полученных вместе с плазмой из крови, стабилизированной разными антикоагулянтами, требуются и разные условия активации.

Т.е., чувствительность тромбоцитов к активирующим агонистам, отличается в зависимости от того, с каким антикоагулянтом они были выделены из крови и в какой антикоагулянтной среде они находятся в плазме. А от этого, по всей видимости, могут зависеть количественные характеристики высвобождения факторов

роста и, соответственно, терапевтическая эффективности полученной тромбоцитарной плазмы.

Примечание. Ответ на вопрос, существует или нет объективная необходимость в активации плазмы, обогащенной тромбоцитами перед её инъекцией пациенту, не рассматривался в контексте представленного исследования. И может быть дан в дополнительных исследованиях, проведенных *in vivo*. По-видимому, все зависит от того, на сколько быстро в замкнутой системе *in vivo* происходит инактивация использованных антикоагулянтов и/или их диффузия в окружающие ткани. Конкретней, на сколько быстро произойдет рекальцификация образцов тромбоцитарной плазмы, которые были получены из крови, стабилизированной цитратом натрия или ЭДТА. И на сколько быстро образцы тромбоцитарной плазмы, полученные из крови, стабилизированной гепарином и, соответственно, содержащие этот антикоагулянт, перестанут оказывать местное антикоагулянтное действие на окружающие ткани. Если данные процессы происходят быстро, то предварительная (перед введением пациенту) активация плазмы, обогащенной тромбоцитами, не требуется. Если медленно или не происходят совсем, то априори такая активация необходима. И выбор активаторов для тромбоцитов цитрированной плазмы, ЭДТА- плазмы и гепаринизированной плазмы, должен быть дифференцирован и ориентирован на результаты, полученные в исследованиях, проведенных *in vitro* (Таблица 1).

COMPARATIVE AGGREGATION CAPABILITY OF PLATELES ISOLATED FROM BLOOD SAMPLES STABILIZED WITH SODIUM CITRATE, EDTA OR HEPARIN IN RESPONSE TO ACTIVATION BY SOME AGONISTS

Minina A.O. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0000-0002-4176-4053); **Bokarev A.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery

(ORCID 0000-0002-4623-5388); **Kholodny R.D.** – the applicant of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0000-0002-2906-4716).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*Bluzma-nast@yandex.ru

ABSTRACT

The ability to activate platelets isolated from blood samples stabilized with sodium citrate, EDTA or heparin and located in plasma containing the same anticoagulant was studied. Platelets found in plasma were induced to activate in vitro by adding agents such as epinephrine, thrombin, or thrombin+thromboxane-A2. The ability of platelets to form aggregates, which were microscopically visualized in phase contrast, was used as an activation marker. The studies showed that platelets isolated from blood samples stabilized with any of the above-mentioned anticoagulants did not aggregate in response to the addition of adrenaline. Platelets isolated from blood stabilized with sodium citrate and EDTA retained the ability to aggregate after plasma recalcification, but did not aggregate in response to the addition of thrombin. However, platelets isolated from sodium citrate-stabilized blood, unlike platelets isolated from EDTA-stabilized blood, aggregated in response to the addition of thrombin along with thromboxane-A2. Platelets isolated from heparin-stabilized blood were moderately aggregated for thrombin activation and very strongly for thrombin + thromboxane-A2 activation. The results of the study obtained in an in vitro model indicate that platelets isolated from blood samples stabilized with sodium citrate or EDTA, after their introduction into the patient's tissues as part of plasma containing the same anticoagulant, will be able to activate and realize their regenerative potential only under the condition of rapid recalcification. And platelets obtained in the form of plasma enriched with platelets from heparin-stabilized blood samples will be able to activate and realize their regenerative potential only if the injected anticoagulant does not

interfere with the processes of plasma and platelet hemostasis at the injection site and, accordingly, the synthesis of thrombin and thromboxane-A2.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lei, H. The effect of anticoagulants on the quality and biological efficacy of platelet-rich plasma / Lei H., Gui L., Xiao R. // *Clinical Biochemistry*. – 2009. - № 42. – p. 1452–1460.
2. Sharda, A. The life cycle of platelet granules / A. Sharda, R. Flaumenhaft // *F1000Res*. – 2018. – V. 28. - № 7. – P. 236.
3. Основы клинической ветеринарной гематологии: учебное пособие для вузов / С. П. Ковалев, А. В. Туварджиев, В. А. Коноплев, Р. М. Васильев. - 2-е изд., стер. - Санкт-Петербург: Лань, 2023. - 120 с. - ISBN 978-5-507-47198-0
4. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови / В.И. Шатурный, С.С. Шахиджанов, А.Н. Свешникова, М.А. Пантелеев // *Биомедицинская химия*. – 2014. – Т. 60, № 2. – С. 182-200.
5. Рагимов, Г.А. Неактивированная тромбоцитарно-лейкоцитарная аутоплазма в лечении нерубцовых алопеций / Рагимов Г.А., Олисова О.Ю., Егорова К.Г. // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2016. - № 9(6). – с. 369-377.
6. Evaluation of subcutaneous infiltration of autologous platelet-rich plasma on skin-wound healing in dogs / Farghali H., Kader N., Khattab M., [et.c.] // *Bioscience Reports*. – 2017. - № 37. – p. 1 – 13.
7. Evaluation of Three Methods of Platelet-Rich Plasma for Treatment of Equine Distal Limb Skin Wounds / Pereira R., Côte F., Brass K., [et.c.] // *Journal of Equine Veterinary Science*. – 2019. - № 72. – p.1-7.
8. Subconjunctival application of plasma platelet concentrates in the treatment of ocular burns: Preliminary results / Marquez-De-Aracena R., Montero-De-Espinosa I., Munoz M., Pereira G. // *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*. – 2007. – V. 82. - № 8. – p. 475-481.
9. Monteiro, S. Effects of platelet-rich plasma on the repair of wounds on the distal

aspect of the forelimb in horses / Monteiro S., Lepage O., Theoret C. // American Journal of Veterinary Research. – 2009. – № 70 (2). – p. 277-82.

10. Комаровский, В. А. Система "Плазмолифтинг" в комплексном лечении травм сухожильно-связочного аппарата у лошадей / Комаровский В. А., Кранина В. А. // Аграрное образование и наука для агропромышленного комплекса: материалы республиканской научно-практической конференции. Белорусская агропромышленная неделя БЕЛАГРО-2024, Индустриальный парк "Великий камень", 5 июня 2024 г. / Белорусская государственная сельскохозяйственная академия [и др.]. – Горки: БГСХА, 2024. – С. 117-120.

11. Фефелов, А.А. Оценка эффективности плазмолифтинга в модели экспериментального пародонтита / Фефелов А.А., Цыбилов Н.Н., Фефелова Е.В. // Актуальные проблемы патофизиологии. Сборник научных статей Международной научно-практической конференции. Под общей редакцией Н.В. Ларёвой. Чита, 2022. – С. 152-157.

12. Эффективность применения лизата богатой тромбоцитами плазмы (БТП) у пациентов с эрозией роговицы или посттравматическим рубцеванием тканей век / Боровкова Н.В., Филатова И.А., Ченцова Е.В., и др. // Российский офтальмологический журнал. – 2020. № 13(3). – с. 8-14.

13. Обогащенные тромбоцитарной плазмой альгинатные скаффолды и гипоксически активированные фибробласты в терапии хронических раневых дефектов кожи / Е.В. Соловьева, О.И. Кляйн, К.А. Дарченко и др. // Вестник Военного инновационного технополиса «ЭРА». – 2023. – Т. 4. – № 2. – С. 136-145.

14. Возможности богатой тромбоцитами плазмы в лечении дефектов роговицы (экспериментальное исследование) / Е.В. Федосеева, Е.В. Ченцова, Н.В. Боровкова и др. // Точка зрения. Восток - Запад. – 2019. – № 1. – С. 51-53.

15. Оптимизация способа получения богатой тромбоцитами плазмы для использования в клинической практике / К.И. Бу-

рыкин, Н.В. Боровкова, М.С. Макаров и др. // Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В. Склифосовского. – 2023. – Т. 12. – № 2. – С. 268-273.

16. Крячко, О.В. Патологическая физиология животных. Краткий курс лекций по типовым патологическим процессам: учебное пособие / О. В. Крячко, Л. А. Лукьянова; МСХ РФ, СПбГУВМ. – Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУВМ, 2024. – 98 с.

17. Дефицит магния и гиперкоагуляционные состояния: метрический анализ данных выборки пациентов 18–50 лет лечебно-профилактических учреждений России / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, Ж.Д. Кобалава и др. // Кардиология. – 2018. – Т. 58. – № 4. – С. 20 – 32.

18. Shechter, M. The role of magnesium as antithrombotic therapy / M. Shechter // Wiener Medizinische Wochenschrift. – 2000. – V. 150. – № 15-16. – P. 343-347.

REFERENCES

1. Lei, H. The effect of anticoagulants on the quality and biological efficiency of platelet-rich plasma / Lei H., Gui L., Xiao R. // Clinical Biochemistry. – 2009. – No. 42. – p. 1452 –1460.

2. Sharda, A. The life cycle of platelet granules / A. Sharda, R. Flaumenhaft // F1000Res. – 2018. – V. 28. – No. 7. – P. 236.

3. Fundamentals of Clinical Veterinary Hematology: a textbook for universities / S. P. Kovalev, A. V. Tuvardzhiev, V. A. Konoplev, R. M. Vasiliev. – 2nd ed., reprint ed. – Saint Petersburg: Lan, 2023. – 120 p. – ISBN 978-5-507-47198-0

4. Activators, receptors and intracellular signaling pathways in blood platelets / V.I. Shaturny, S.S. Shakhidzhanov, A.N. Sveshnikova, M.A. Panteleev // Biomedical chemistry. – 2014. – Vol. 60, No. 2. – P. 182-200.

5. Ragimov, G.A. Non-activated platelet-leukocyte autoplasm in the treatment of non-scarring alopecia / Ragimov G.A., Olisova O.Yu., Egorova K.G. // Russian Journal of Skin and Venereal Diseases. – 2016. – No. 9 (6). – p. 369-377.

6. Evaluation of subcutaneous infiltration of

- autologous platelet-rich plasma on skin-wound healing in dogs / Farghali H., Kader N., Khattab M., [et.c.] // *Bioscience Reports*. – 2017. – No. 37. – r. 1 – 13.
7. Evaluation of Three Methods of Platelet-Rich Plasma for Treatment of Equine Distal Limb Skin Wounds / Pereira R., Côte F., Brass K., [et.c.] // *Journal of Equine Veterinary Science*. – 2019. – No. 72. – pp. 1-7.
8. Subconjunctival application of plasma platelet concentrate in the treatment of ocular burns: Preliminary results / Marquez-De-Aracena R., Montero-De-Espinosa I., Munoz M., Pereira G. // *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*. – 2007. – V. 82. – No. 8. – p. 475-481.
9. Monteiro, S. Effects of platelet-rich plasma on the repair of wounds on the distal aspect of the forelimb in horses / Monteiro S., Lepage O., Theoret C. // *American Journal of Veterinary Research*. – 2009. – No. 70 (2). – r. 277-82.
10. Komarovskiy, V. A. The "Plasmolifting" system in the complex treatment of tendoligament apparatus injuries in horses / Komarovskiy V. A., Kranina V. A. // *Agrarian education and science for the agro-industrial complex: materials of the republican scientific and practical conference. Belarusian agro-industrial week BELAGRO-2024, Industrial Park "Great Stone", June 5, 2024 / Belarusian State Agricultural Academy [and others]*. – Gorki: BGSHA, 2024. – P. 117-120.
11. Fefilov, A. A. Evaluation of the effectiveness of plasmolifting in the model of experimental periodontitis / Fefilov A. A., Tsybikov N. N., Fefelova E. V. // *Actual problems of pathophysiology. Collection of scientific articles of the International Scientific and Practical Conference. General editor N.V. Lareva. Chita, 2022*. – P. 152-157.
12. Efficiency of using platelet-rich plasma (PRP) lysate in patients with corneal erosion or post-traumatic scarring of eyelid tissues / Borovkova N.V., Filatova I.A., Chentsova E.V., et al. // *Russian Ophthalmological Journal*. – 2020. No. 13 (3). – P. 8-14.
13. Platelet-rich plasma alginate scaffolds and hypoxic activated fibroblasts in the therapy of chronic wound skin defects / E.V. Solovieva, O.I. Klein, K.A. Darienko et al. // *Bulletin of the Military Innovation Technopolis "ERA"*. – 2023. – Vol. 4. – No. 2. – Pp. 136-145.
14. Possibilities of platelet-rich plasma in the treatment of corneal defects (experimental study) / E.V. Fedoseeva, E.V. Chentsova, N.V. Borovkova et al. // *Point of view. East - West*. – 2019. – No. 1. – Pp. 51-53.
15. Optimization of the method for obtaining platelet-rich plasma for use in clinical practice / K.I. Burykin, N.V. Borovkova, M.S. Makarov et al. // *Emergency medical care. Journal named after N.V. Sklifosovsky*. – 2023. – V. 12. – No. 2. – P. 268-273.
16. Kryachko, O. V. Pathological physiology of animals. A short course of lectures on typical pathological processes: a tutorial / O. V. Kryachko, L. A. Lukyanova; Ministry of Agriculture of the Russian Federation, St. Petersburg State University of Medicine. – St. Petersburg: Publishing house of St. Petersburg State University of Medicine, 2024. – 98 p.
17. Magnesium deficiency and hypercoagulable states: metric analysis of data from a sample of patients aged 18–50 years in medical and preventive institutions of Russia / O. A. Gromova, I. Yu. Torshin, Zh. D. Kobalava et al. // *Cardiology*. – 2018. – T. 58. – No. 4. – P. 20 – 32.
18. Shechter, M. The role of magnesium as antithrombotic therapy / M. Shechter // *Wiener Medizinische Wochenschrift*. – 2000. – V. 150. – No. 15-16. – P. 343-347.

УДК: 619:616.64

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.376

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДВУХ СПОСОБОВ КАСТРАЦИИ БЫЧКОВ А БЕРДИН-АНГУСОВ

Симонов Ю.И.¹ – канд. ветеринар. наук, зав. каф. терапии, хирургии, ветакушерства и фармакологии (ORCID 0000-0002-1769-1018); **Черненко В.В.**¹ – канд. ветеринар. наук, зав. каф. эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветсанэкспертизы (ORCID 0000-0002-3666-0831); **Симонова Л.Н.**¹ – канд. ветеринар. наук, доц. каф. терапии, хирургии, ветакушерства и фармакологии (ORCID 0000-0002-1331-5891); **Черненко Ю.Н.**¹ – канд. биол. наук, доц. каф. нормальной и патологической морфологии и физиологии животных (ORCID 0000-0001-7266-4058); **Семенов Б.С.**² – д-р ветеринар. наук, проф. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0003-0149-9360)

¹ ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет»

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* y.i.simon.1965@yandex.ru

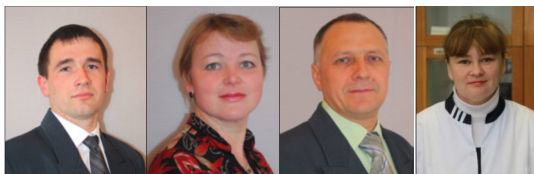
Ключевые слова: бычки абердин-ангусы, кастрация, семенники, осложнения, щипцы Бурдиццо, эластратор.

Keywords: Aberdeen Angus gobies, castration, testes, complications, Burdizzo forceps, elastrator.

Поступила: 12.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Снижение тестостерона замедляет рост мышц, но при этом в мясо откладываются жировые прослойки в виде узора, оно становится мягче, лучше по вкусовым характеристикам и не имеет специфического запаха. Цель собственных исследований – дать сравнительную оценку эффективности кастрации бычков двумя бескровными способами: с использованием эластратора Callicrate smart bander и щипцами Бурдиццо.

Опыт провели на бычках породы абердин-ангус, содержащихся на ферме Голубча ООО «Брянская мясная компания», расположенной в Трубчевском районе Брянской области. Таким образом, было сформировано две группы бычков в возрасте от 12 до 15 мес. Бычкам опытной группы провели кастрацию с помощью щипцов Бурдиццо. Бычков контрольной группы кастрировали с помощью эластратора Callicrate smart bander. В опытной группе у 20 % животных имелись осложнения различной степени тяжести. Наиболее распространенными видами послекастрационных осложнений являлись раны кожи и воспалительные отеки, гнойно некротические процессы в мошонке. Практически у всех бычков, кастрированных щипцами, наблюдались воспалительные отеки разной

степени выраженности, которые спадали через 10-13 дней. В контрольной группе осложнения отмечали у 16,25% животных. Причиной осложнений явилось повреждение кожи мошонки в месте прилегания эластрационного кольца, с последующим развитием раневой инфекции. Неполное затягивание резинки приводило к частичному сохранению питания семенника. У таких животных наблюдался венозный застой и повышенная болезненность в тканях мошонки и семенников, отек сохранялся более трех недель. Разрыв эластрационного кольца и его потеря являлись причиной задержки отпадания мумифицированной мошонки с семенниками и развития воспалительных процессов с разрастанием патологической грануляционной ткани в области культи.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

АПХ «Мираторг», крупнейший производитель «мраморной» говядины в России и Европе, накопил большой практический опыт ведения современного мясного скотоводства. поголовье абердин-ангусов в Брянской мясной компании составляет в настоящее время около 214 тыс голов [1]. Порода абердин-ангус имеет высокие показатели мраморности мяса, заложенные генетически. Однако, важную роль играют условия содержания, рацион кормления и кастрация откормочных бычков.

Практика показывает, что кастрированные бычки становятся спокойнее, что способствует быстрому набору веса. Снижение тестостерона замедляет рост мышц, но при этом в мясо откладываются жировые прослойки в виде узора, оно становится мягче, лучше по вкусовым характеристикам и не имеет специфического запаха [2,3].

По мнению Михайловой И. И. с соавторами, кастрация бычков при беспривязном содержании на откормочных площадках является одним из важнейших условий снижения травматизма, поскольку половое созревание приводит к повышенной возбудимости животных [4].

В научной литературе идут обсуждения вопроса, какой способ кастрации бычков является наиболее оптимальным в промышленных условиях [3-9].

Кибкало Л.И и др. (2022) установили преимущество выращивания кастрированных бычков с применением закрытого (бескровного) метода кастрации [3]. Бадлуев Э.Б. и соавт. (2021) в своих исследованиях делают вывод, что наилучшим способом кастрации бычков старше 3 месяцев является перкутанный метод.

Авторы считают этот метод менее трудоемким, не требующим дополнительных затрат и приемлемым для любого времени года и любых условий содержания животных [5]. Дашко Д.В., Батомункуев А.С. (2020) указывают, что при перкутанном способе кастрации шестимесячных бычков щипцами Телятникова, осложнения отсутствуют, а привесы максимально высокие, по сравнению с животными, оперированными открытым способом [7]. Лещенко Т.Р. и соавт. (2019) считают, что необходимо усовершенствовать открытый способ кастрации бычков, торзированием кровеносных сосудов семенного канатика [8]. Гармаев Б.Ц, Гомбоев Б.Н. (2015) предлагает химическую кастрацию самцов сельскохозяйственных животных с помощью диальдегида глутаровой кислоты [9].

В настоящее время известно большое количество способов кастрации животных, однако выбор способа и совершенствование методики выполнения операции, дающие в последствие минимальное количество осложнений, является актуальным направлением исследования.

В связи с этим, мы поставили целью своих исследований - дать комплексную сравнительную оценку эффективности кастрации бычков двумя бескровными способами: с использованием эластратора Callicrate smart bander и щипцами Бурдицко.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Производственный опыт провели на бычках породы абердин-ангус, содержащихся на ферме Голубча ООО «Брянская мясная компания», расположенной в Трубчевском районе Брянской области. Согласно принятым протоколам на фер-

ме, кастрация бычков проводится в возрасте 3 месяца бескровным способом с помощью резиновых колец и ампулятора-эластратора марки Кербл. Однако, по разным причинам, в группе кастрированных бычков всегда оказываются животные, которым эту операцию не сделали. Их кастрируют в более поздние сроки с использованием эластратора Callicrate smart bander. Решается вопрос о целесообразности применения на ферме щипцов Бурдиццо для кастрации бычков старших групп.

Для проведения исследований были сформированы две группы бычков в возрасте от 12 до 15 мес с размерами семенников от 7*9 до 10*13 см. Количество бычков опытной группы составило 30 голов. Им провели кастрацию с помощью щипцов Бурдиццо длиной 51 см, с размером бранши 9*10 см. Численность контрольной группы составила 80 бычков. Кастрацию в этой группе провели с помощью эластратора Callicrate smart bander. Значительно меньшая численность поголовья опытной группы объясняется разумной осторожностью ветспециалистов к внедрению неиспользованных ранее способов кастрации. Кастрация бычков проводилась в фиксационном станке в стоячем положении. Методику пережатия семенных канатиков эластраторными резинками и размождение сосудистого конуса канатика щипцами Бурдиццо проводили в соответствии с инструкциями.

Реакцию организма на кастрацию анализировали путем наблюдения за общим состоянием исследуемых животных, наличием аппетита, а также приросту живой массы. Живую массу определяли путем индивидуального взвешивания в станке для фиксации KPC Silencer Ranch (США) до проведения кастрации и спустя 30 дней. Проявление местной реакции оценивали при осмотре мошонки, отмечая отеки, выраженность признаков воспаления тканей, повреждения кожи. Наблюдение за общей реакцией организма и состоянием мошонки кастрированных бычков проводили до исчезновения признаков воспаления.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На основании наблюдений в первые двое суток установлено, что кастрированные бычки обеих групп имели сниженный аппетит, пониженную реакцию на внешние раздражители, часто ложились и вставали, не реагируя на остальных животных. Причиной такого состояния, вероятно, были значительные посткастрационные боли.

При оценке состояния мошонки у бычков из опытной группы, было установлено, что у 20 % животных имелись осложнения различной степени тяжести. Наиболее распространенными видами послекастрационных осложнений являлись раны кожи и воспалительные отеки (рис 1), гнойно-некротические процессы в мошонке (рис 2). Практически у всех бычков, кастрированных щипцами, наблюдались воспалительные отеки разной степени выраженности, которые спадали через 10-13 дней (рис 3).

Для эффективной кастрации бычков с использованием щипцов Бурдиццо, необходимо сжимать бранши в области шейки мошонки до получения характерного хруста. Основной причиной развития осложнений явилось повторное (а иногда многократное) наложение щипцов на шейку мошонки, но без достаточного сжатия бранш, а также неполный захват браншами шейки мошонки. Это приводило к чрезмерному травмированию тканей, развитию воспалительного отека и попаданию вторичной инфекции. Ветеринарные специалисты, осуществляющие кастрацию щипцами, отмечают, что достаточно сложно бранши щипцов закрепить в необходимом месте и быстро, прикладывая большую физическую силу, сжать щипцы до требуемого хруста. Неполное накладывание бранш щипцов на шейку мошонки или их частичное соскальзывание при сжатии приводит к травмированию кожи мошонки и развитию хирургической инфекции. Недостаточно сильное сжатие щипцов, без характерного хруста, не обеспечивает полного нарушения кровоснабжения семенников и как следствие, не происходит их рассасывание.



Рисунок 1 – Раны кожи и воспалительный отек тканей семенников и мошонки после кастрации щипцами Бурдиццо



Рисунок 2 – Гнойно-некротический процесс в мошонке как результат инфицирования раны после кастрации щипцами Бурдиццо

В контрольной группе осложнения отмечали у 16,25% животных. Причиной осложнений у бычков, кастрированных при помощи эластратора, являлось повреждение кожи мошонки в месте прилегания эластрационного кольца, с последующим развитием раневой инфекции. Неполное затягивание резинки приводило к частичному сохранению трофики семенника (рис 4). У таких животных наблюдался венозный застой и повышенная болезненность в тканях мошонки и семенников, отек сохранялся более трех недель. Разрыв эластрационного кольца и его потеря являлись причиной задержки отпадания мумифицированной мошонки с семенниками и развития воспалительных процессов с разрастанием патологической грануляционной ткани в области культи (рис 5).

У 2-х бычков констатировали неправильное наложение эластрационного кольца, в результате чего наблюдалось

выскальзывание одного семенника из петли. Общую реакцию организма на воспалительный процесс после кастрации можно оценивать по набору массы тела за период исследования. У бычков контрольной и опытной группы, перенесших операцию без осложнений, среднесуточный прирост живой массы спустя 30 суток после кастрации составлял 1135 ± 65 и 1186 ± 86 г, соответственно. Более высокие приросты живой массы у бычков, кастрированных перкутанным способом, можно объяснить эффектом тканевой терапии при рассасывании тканей семенников.

В исследованиях Дашко Д.В., Батомункуев А.С. (2020 г), Джакупова И.Т., с соавт. (2020 г) также имеются сведения об увеличении среднесуточного прироста у бычков, кастрированных перкутанным способом по сравнению с бычками, кастрацию которых проводили с использованием эластратора, а также открытым способом с наложением лигатуры [6,7].



Рисунок 3 – Отек мошонки

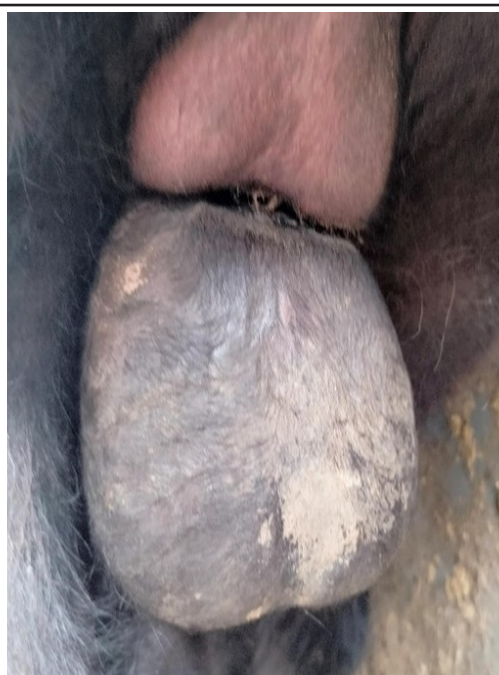


Рисунок 4 – Неполное затягивание эластичного кольца



Рисунок 5 – Кровотечение с разрастанием патологической грануляционной ткани и некротические процессы при потере эластичного кольца

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Кастрация бычков старше 12 месяцев бескровным способом, независимо от выбранного метода, сопровождается риском развития посткастрационных осложнений. Процент осложнений может достигать 20 при кастрации щипцами Бурдиццо, и 16,25 – при использовании эластратора Callicrate smart bander.

Наиболее частыми осложнениями являются раны, нанесенные браншами щипцов и повреждения кожи мошонки в месте прилегания эластрационного кольца, с последующим инфицированием и развитием гнойно-некротических процессов в мошонке. Недостатком при использовании эластратора является задержка отмирания семенника при неполном затягивании эластрационной резинки и разрывы эластрационного кольца.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF TWO METHODS OF CASTRATION OF ABERDEEN-ANGUS BULLS

Simonov Yu.I.^{1*} – Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Department of Therapy, Surgery, Veterinary Obstetrics and Pharmacology (ORCID 0000-0002-1769-1018); **Chernenok V.V.**¹ – Candidate of Veterinary Sciences, head of the department of epizootology, microbiology, parasitology and veterinary sanitary inspection (ORCID 0000-0002-3666-0831); **Simonova L.N.**¹ – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Therapy, Surgery, Veterinary Obstetrics and Pharmacology (ORCID 0000-0002-1331-5891); **Chernenok Yu.N.**¹ – Candidate of biological Sciences, associate professor of the department of normal and pathological morphology and physiology of animals (ORCID 0000-0001-7266-4058); **Semenov B.S.**² – doctor veterinary sciences, professor of the department of general, special and operative surgery (ORCID 0000-0003-0149-9360).

¹ Bryansk State Agrarian University;

² Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine.

*y.i.simon.1965@yandex.ru

ABSTRACT

A decrease in testosterone slows down muscle growth, but at the same time, fat layers are deposited in the meat in the form of a pattern, it becomes softer, has better taste characteristics and does not have a specific smell. The aim of the research is to provide a comparative assessment of the effectiveness of castration of bull calves using two bloodless methods: using a Callicrate smart band elastrator and Burdizzo forceps. The experiment was conducted on Aberdeen Angus calves kept on the Golubcha farm of Bryansk Meat Company LLC, located in the Trubchevsky district of the Bryansk region. Two groups of bull calves aged 12 to 15 months were formed. The calves of the experimental group were castrated with Burdizzo forceps. The bulls of the control group were castrated using a Callicrate smart band elastrator. In the experimental group, 20% of the animals had complications of varying severity. The most common types of post-surgical complications were skin wounds and inflammatory edema, purulent necrotic processes in the scrotum. Almost all calves neutered with forceps had inflammatory edema of varying severity, which subsided after 10-13 days. In the control group, complications were noted in 16.25% of animals. The cause of the complications was damage to the skin of the scrotum at the site of the adhesion ring, followed by the development of a wound infection. Incomplete tightening of the elastic band led to partial preservation of testicular nutrition. In such animals, venous congestion and increased soreness in the tissues of the scrotum and testicles were observed, and edema persisted for more than three weeks. The rupture of the elastation ring and its loss caused a delay in the loss of the mummified scrotum with testes and the development of inflammatory processes with the proliferation of pathological granulation tissue in the stump area.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лебедько Е.Я. Купреенко А.И. Состояние мясного скотоводства Брянской области // Техника и технологии в животноводстве. 2020. № 3 (39). С.20-25.

2. Кибкало Л.И., Острикова Е.Н. Качество мяса кастрированных бычков голштинской породы при выращивании в условиях промышленной технологии // Главный зоотехник. 2024. № 6. С. 3-16.

3. Кибкало Л.И., Бугаев С.П., Острикова Е.Н. Продуктивные показатели некастрированных и кастрированных бычков // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2022. № 6. С.138-141.

4. Сравнительная оценка способов кастрации бычков / И.И. Михайлова, Т.Р. Лещенко, Е.Ю. Финагеев, О.Н. Бочарова-Михайлова, Э.Д. Солохина // Международный вестник ветеринарии. 2023. № 2. С. 366-371.

5. Бадлуев Э.Б., Очирова Л.А., Авдеев С.А. и др. Сравнительная оценка способов кастрации бычков // Теория и практика современной аграрной науки: материалы IV Национальной (Всероссийской) научной конференции с международным участием. Новосибирск, 2021. С. 851-853. EDN: HAOZFF

6. Джакупов И.Т., Доманов Д.И., Камсаев К.М. Результативность методов кастрации и их влияние на живую массу бычков // Вестник науки Казахского агротехнического исследовательского университета им. С. Сейфуллина. 2020. №3 (106). С. 214-223.

7. Дашко Д.В., Батомункуев А.С. К вопросу применения перкутанного метода кастрации продуктивных животных в условиях производства // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. 2020. №4 (61). С. 159-163.

8. Способ торзирования сосудов семенных канатиков при кастрации самцов домашних животных / Т.Р. Лещенко, И.И. Михайлова, Е.Ю. Финагеев, М.Д. Калеева, О.Н. Михайлова // Ветеринария. 2019. №3. С. 43-45.

9. Гармаев Б.Ц. Гомбоев Б.Н. Способ кастрации самцов сельскохозяйственных животных // Вестник АПК Ставрополя. 2015. №4 (20). С.84-87.

REFERENCES

1. Lebedko E.Ya. Kupreenko A.I. The state of beef cattle breeding in the Bryansk region // Machinery and technologies in animal husbandry. 2020. No. 3 (39). pp.20-25.
2. Kibkalo L.I., Ostrikova E.N. The quality of meat of castrated Holstein bull calves when grown under industrial technology // Chief zootechnician. 2024. № 6. pp. 3-16.
3. Kibkalo L.I., Bugaev S.P., Ostrikova E.N. Productive indicators of non-castrated and neutered bulls // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. 2022. № 6. pp.138-141.
4. Comparative assessment of bychkov castration methods / I.I. Mikhailova, T.R. Leshchenko, E.Y. Finageev, O.N. Bocharova-Mikhailova, E.D. Solokhina // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023. No. 2. pp. 366-371.
5. Badluev E.B., Ochirova L.A., Avdeev S.A. and others. Comparative assessment of the methods of castration of bulls // Theory and practice of modern agrarian science: proceedings of the IV National (All-Russian) scientific Conference with international participation. Novosibirsk, 2021. pp. 851-853. EDN: HAOZFF
6. Dzhakupov I.T., Domanov D.I., Kamsaev K.M. The effectiveness of castration methods and their effect on the live weight of bulls // Bulletin of Science of the Kazakh Agrotechnical Research University named after S. Seifullin. 2020. No. 3 (106). pp. 214-223. EDN: VOAANF.
7. Dashko D.V., Batomunkuyev A.S. On the application of percutaneous method of castration of productive animals in production conditions // Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Filippov. 2020. No.4 (61). pp. 159-163.
8. Method of torsion of vessels of the spermatic cords during castration of male domestic animals / T.R. Leshchenko, I.I. Mikhailova, E.Yu. Finageev, M.D. Kaleeva, O.N. Mikhailova // Veterinary medicine. 2019. No. 3. pp. 43-45.
9. Garmaev B.C. Gomboev B.N. Method of castration of male farm animals // Bulletin of the Agroindustrial Complex of Stavropol. 2015. No.4 (20). pp.84-87.



НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 616.3-084:636.2-053.2.087.8

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.383

ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ ДОБАВКИ «ГИДРОЛАКТИВ» У ТЕЛЯТ ПРИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА

Ришко О.А.* – соис. каф. внутренних болезней животных им. Синева А.В. (ORCID 0000-0003-1322-425X); **Прусаков А.В.** – д-р ветеринар. наук, доц., зав. каф. внутренних болезней животных им. Синева А.В. (ORCID 0000-0001-5582-5155); **Яшин А.В.** – д-р ветеринар. наук, проф., проф. каф. внутренних болезней животных им. Синева А.В. (ORCID 0000-0002-3614-4730).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*o-xena@yandex.ru

Ключевые слова: болезни молодняка, телята, диспепсия, гастроэнтерит, профилактика, лечение.

Key words: diseases of young animals, calves, dyspepsia, gastroenteritis, prevention, treatment.

Поступила: 25.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Цель исследования – изучить профилактическую эффективность пробиотической добавки «ГидроЛактиВ» и установить ее влияние на формирование микробиома кишечника у телят при неонатальных желудочно-кишечных заболеваниях. Объектом для его проведения послужили здоровые новорожденные телята, не имевшие клинических признаков гипотрофии. Из отобранных телят, по принципу аналогов, с учетом массы тела и физиологического состояния были сформированы две группы – контрольная и опытная (n=10). Животные обеих групп содержались в идентичных условиях на базовом рационе, принятом в хозяйстве для выращивания молодняка. С четвертого дня жизни и до достижения сорокадневного возраста телятам всех групп, по схеме, принятой в опытном хозяйстве, выпаивали кефир, приготовленный с применением ферментативной кормовой добавки «ГастроВет». Дополнительно телятам второй подопытной группы к кефиру добавляли кормовую добавку «ГидроЛактиВ» в дозе 15,0 г на голову два раза в день. В случае возникновения у исследуемых животных клинических признаков желудочно-кишечных заболеваний, в первую очередь проявляющихся диспепсией, их лечили по схеме, используемой в хозяйстве. Последняя включала: «Колифлоркс» в дозе 2,0 мл/гол/сутки; «Сульфатрисан» в дозе

3,0 мл/гол/сутки; Сыворотка 9-ти валентная (Уралбиовет), однократно в дозе 50,0 мл/гол. Лечение проводили до полного исчезновения клинических признаков. С целью оценки степени влияния используемой добавки на состав микрофлоры кишечника бактериологическим методом исследовали пробы кала. Проведенные исследования показали высокую профилактическую эффективность от использования пробиотической добавки «ГидроЛактиВ», что характеризуется снижением уровня заболеваемости и укорочением сроков выздоровления. Используемая добавка положительно влияет на формирование микробиома кишечника телят. Это проявляется снижением в его составе количества кишечной палочки и стафилококков, что свидетельствует об ее антагонистической активности к условно патогенной флоре, а также повышением уровня содержания лактобактерий.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Не смотря на постоянное совершенствование технологического процесса выращивания молодняка одной из самых острых проблем животноводства остаются неонатальные заболевания [1, 3, 5, 9]. В первую очередь к ним следует отнести неспецифическую диспепсию и гастроэнтерит [10]. По данным литературы, диспепсия регистрируется у 50,0-100,0% новорожденных, а летальность при ней может достигать 50,0% [6, 8]. Гастроэнтерит у молодняка, как правило, развивается в период смены типа кормления с молочного на дефинитивный рацион, содержащий в своем составе грубые корма и характеризуется в сравнении с диспепсией более легкой формой течения и низкой летальностью [10]. В связи с этим для решения этих проблем в клинической ветеринарии предложено множество схем лечения и профилактики данных болезней. Однако большинство из них основано на применении антибактериальных препаратов, имеющих множество побочных эффектов. Поэтому в настоящее время ведется активный поиск новых менее токсичных лекарственных средств, не уступающих по своему действию антибиотикам. Этим требованиям полностью отвечают пробиотические препараты [2, 4], имеющие выраженную антагонистическую активность, как к условно-патогенной, так и к патогенной микрофлоре [11].

Однако, действие многих пробиотиков, представленных на рынке фармакологических препаратов, не изучено в условиях промышленного типа ведения животноводства, а также не разработаны схемы их сочетанного применения с пре-

паратами других групп с целью профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний.

Исходя из вышеизложенного нами была поставлена цель – изучить профилактическую эффективность пробиотической добавки «ГидроЛактиВ» и установить ее влияние на формирование микробиома кишечника у телят при неонатальных желудочно-кишечных заболеваниях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом для проведения исследований послужили здоровые новорожденные телята, не имевшие клинических признаков гипотрофии, в соответствии с методикой ее выявления, предложенной Д. А. Саврасовым (2003) [7]. Из отобранных телят, по принципу аналогов, с учетом массы тела и физиологического состояния были сформированы две группы – контрольная (группа 1) и опытная (группа 2). Каждая из групп в своем составе включала десять животных.

Животные обеих групп содержались в идентичных условиях на базовом рационе, принятом в хозяйстве для выращивания молодняка. Сразу после рождения их отнимали от матерей и переводили в индивидуальные клетки профилактория. С рождения и до четвертого дня жизни телятам выпаивали молозиво, плотность которого была не ниже 1,050 г/см³.

С четвертого дня жизни и до достижения сорокадневного возраста телятам всех групп, по схеме, принятой в опытном хозяйстве, выпаивали кефир, приготовленный с применением ферментативной кормовой добавки «ГастроВет», с десятидневного возраста животных начи-

нали приучать к грубым кормам, путем раскладывания в кормушки сена первого класса и стартерного корма (КК-62). Дополнительно телятам второй подопытной группы к кефиру добавляли кормовую добавку «ГидроЛактиВ» в дозе 15,0 г на голову два раза в день. Последняя представляет собой пробиотическую кормовую добавку на основе чистых лиофильно высушенных культур лактобактерий *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus bulgaricus*.

В случае возникновения у исследуемых животных клинических признаков желудочно-кишечных заболеваний, в первую очередь проявляющихся диспепсией, их лечили по схеме, используемой в хозяйстве. Последняя включала: «Колифлоркс» в дозе 2,0 мл/гол/сутки; «Сульфетрисан» в дозе 3,0 мл/гол/сутки; Сыворотка 9-ти валентная (Уралбиовет), однократно в дозе 50,0 мл/гол. Лечение проводили до полного исчезновения клинических признаков.

С целью оценки степени влияния используемой добавки на состав микрофлоры кишечника бактериологическим методом исследовали пробы кала. Последние отбирали на третий, восьмой, 20 и 40 дни опыта из прямой кишки в утренние часы перед кормлением, стерильно при помощи стерильной одноразовой ложки Фольмана.

Для определения состава микрофлоры проводили бактериологический посев отобранного материала на плотные питательные среды. С этой целью каждую из проб тщательно перемешивали, отбирали 0,5 г исследуемого материала, разводили в 4,5 мл стерильного физиологического раствора и проводили посев на среды МПА, Эндо и XLD-агар (для выявления кишечной палочки), стафилококковый агар (для выявления стафилококка), инкубировали при температуре +37,0°C в аэробных условиях. Учет числа колоний проводили через 48 часов.

С целью выделения лактобактерий использовали специальные среды для их идентификации производства НИЦФ. Исследуемый материал высевали с при-

менением стандартного метода серийных разведений от 10^1 до 10^{10} . Полученные пробы инкубировали при температуре +37°C 48 часов. После инкубирования, подсчитывали количество микроорганизмов, содержащихся в 1,00 г фекалий.

Полученные числовые результаты переводили в десятичные логарифмы.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На восьмой день эксперимента у некоторых из животных были зарегистрированы клинические признаки характерные для неспецифической диспепсии, пик которой в условиях опытного хозяйства как раз и наблюдается на восьмой день после их рождения. В частности, у них наблюдалось угнетение, снижение аппетита или полный отказ от корма и повышение температуры тела на 0,4-1,0°C, в сравнении с верхней границей нормы. Также в сравнении с клинически здоровыми животными у них отмечалось напряжение брюшной стенки и выделение каловых масс жидкой консистенции светло-желтого цвета с кисловатым запахом. При этом уровень заболеваемости, исходя из наличия клинических проявлений болезни, составил в первой группе 70,0% (семь телят), а во второй – 40,0% (четыре теленка). Выздоровление после начала лечения наступало в первой группе на седьмой-восьмой день от начала заболевания, а во второй на шестой. Признаками выздоровления считали: повышение активности животных, нормализацию аппетита и температуры тела, нормализацию консистенции, цвета и запаха каловых масс.

На 20 день эксперимента были отмечены признаки расстройства пищеварения характерные для гастроэнтерита у четырех животных контрольной группы (40,0%), проявляющиеся в разжижении стула и незначительным снижением аппетита. В то время как у телят, получавших пробиотическую добавку, существенных отклонений установлено не было. Данный возрастной период является рубежным в выращивании молодняка. На этом этапе у животных часто фиксируется гастроэнтерит, обусловленный началом перехода с

молочного типа питания на растительный грубый корм.

Таким образом, исходя из вышеизложенного пробиотическая добавка «ГидроЛактиВ» имеет высокую профилактическую эффективность при желудочно-кишечных заболеваниях, что выражается в снижении заболеваемости и укорочении сроков выздоровления.

Исходя из данных, полученных при проведении бактериологических исследований на третий день опыта у животных всех групп не было статистически значимых различий по содержанию учитываемых в исследовании групп микроорганизмов (графики 1, 2, 3). Это исключает возможные ошибки при дальнейшем проведении опыта и дает возможность достоверной интерпретации его результатов, в частности возможность оценки степени влияния добавки «ГидроЛактиВ» на состав микрофлоры кишечника телят.

Исходя из данных, отображенных на графике 1, на восьмой день эксперимента наименьшее количество КОЕ кишечной палочки было выявлено в материале, полученном от телят второй группы. Так, их число было ниже на 9,36%, в сравнении с контролем. При этом, исходя из данных отображенных на графике 2, на восьмой день эксперимента наименьшее количество КОЕ стафилококков было выявлено в материале телят второй группы. Так, их число было ниже на 9,05%, в сравнении с контролем.

Увеличение числа представителей условно патогенной микрофлоры в составе микробиома кишечника у экспериментальных животных в возрасте восьми дней говорит о развивающемся у них дисбактериозе. Последний обусловлен диспепсией, пик которой в условиях опытного хозяйства у телят как раз и наблюдается на восьмой день после рождения.

Выявленная динамика в отношении содержания условно патогенных микроорганизмов в составе микробиома кишечника у используемых в проведении исследования животных также наблюдалась на 20 и 40 дни постановки эксперимента. Так, исходя из данных графиков 1 и 2, на 20 день количество КОЕ кишечной палочки и стафилококков в составе проб кала телят, дополнительно получавших пробиотическую кормовую добавку «ГидроЛактиВ», было ниже на 15,60% и 4,57%, в сравнении с контролем, а на 40 день опыта, на 7,13% и 6,32%, соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии пробиотической добавки, проявляющемся снижением количества КОЕ кишечной палочки и стафилококков в составе микробиома кишечника телят. При этом, судя по полученным результатам, данная добавка обладает антагонистической активностью к условно патогенной флоре.

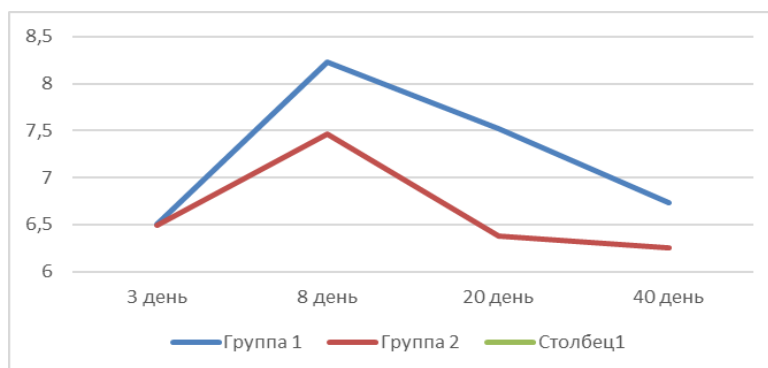


График 1 – Изменение числа кишечной палочки в составе микробиома кишечника телят (lgKOE).

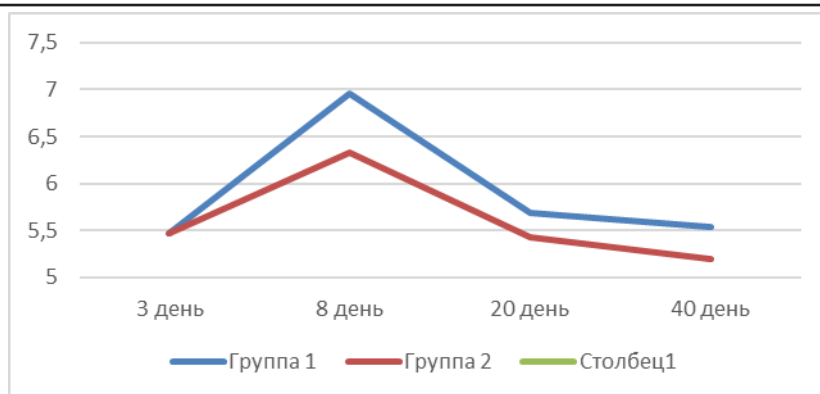


График 2 – Изменение числа *Staphylococcus sp.* в составе микробиома кишечника телят (lgKOE).

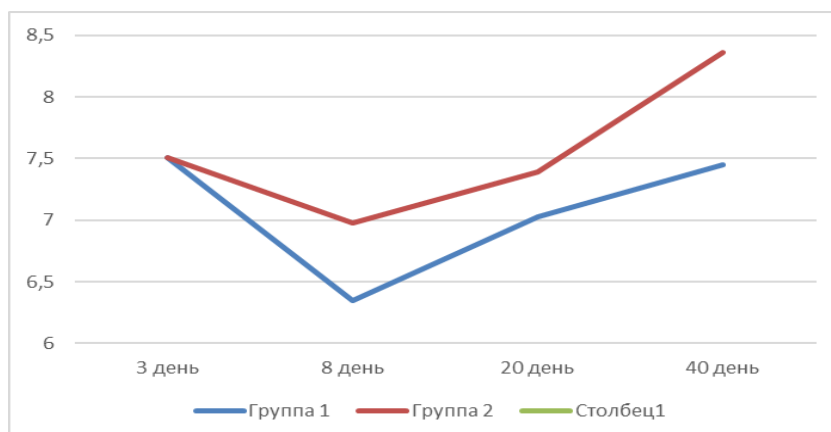


График 3 – Изменение числа лактобактерий в составе микробиома кишечника телят (lgKOE).

Исходя из данных графика 3 на восьмой день исследований во всех группах наряду с повышением числа условно патогенных микроорганизмов, наблюдалось снижение уровня лактобактерий. Данное состояние микробиоценоза характерно для дисбактериоза, вызванного диспепсией.

При этом наибольшее число КОЕ лактобактерий на восьмой день опыта было характерно для содержимого кишечника телят второй группы. Так, их количество было выше на 9,03%. Подобная динамика сохранилась на последующих этапах эксперимента. Так, на 20 день число колоний лактобактерий у животных второй груп-

пы было выше на 4,87%, а на 40 день выше на 10,89%, в сравнении с контролем.

Полученные данные подтверждают положительное влияние пробиотической добавки «ГидроЛактиВ» на состав микробиома кишечника, проявляющееся повышением уровня содержания лактобактерий в его составе.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, проведенные исследования показали высокую профилактическую эффективность от использования пробиотической добавки «ГидроЛактиВ», что характеризуется снижением уровня заболеваемости и укорочением сроков выздоровления. Использованная добавка

положительно влияет на формирование микробиома кишечника телят. Это проявляется снижением в его составе количества кишечной палочки и стафилококков, что свидетельствует об ее антагонистической активности к условно патогенной флоре, а также повышением уровня содержания лактобактерий.

PREVENTIVE USE OF PROBIOTIC SUPPLEMENT "GIDROLAKTIV" IN CALVES WITH GASTROINTESTINAL DISEASES AND THEIR EFFECT ON THE FORMATION OF THE INTESTINAL MICROBIOME

Rishko O.A.* – Candidate of the Sinev Department of Internal Animal Diseases (ORCID 0000-0003-1322-425X); **Prusakov A.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Sinev Department of Internal Animal Diseases. Sineva A.V. (ORCID 0000-0001-5582-5155); **Yashin A.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of the Department of Internal Animal Diseases. Sineva A.V. (ORCID 0000-0002-3614-4730).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*o-xena@yandex.ru

ABSTRACT

The aim of the study was to study the preventive efficacy of the probiotic supplement "GidroLaktiV" and to establish its effect on the formation of the intestinal microbiome in calves with neonatal gastrointestinal diseases. The object of the study was healthy newborn calves that did not have clinical signs of hypotrophy. From the selected calves, according to the principle of analogues, taking into account body weight and physiological condition, two groups were formed – the control and the experimental. Each of the groups included ten animals. The animals of both groups were kept in identical conditions on a basic diet adopted by the farm for raising young animals. From the fourth day of life until the age of forty, calves of all groups were given kefir prepared using the enzymatic feed additive "GastroVet" according to the scheme adopt-

ed in the experimental farm. Additionally, the feed additive "GidroLaktiV" was added to kefir to the calves of the second experimental group at a dose of 15.0 g per head twice a day. In the case of clinical signs of gastrointestinal diseases in the studied animals, primarily manifested by dyspepsia, they were treated according to the scheme used in the farm. The last one included: "Coliflox" at a dose of 2.0 ml / goal / day; "Sulfetrisan" at a dose of 3.0 ml / goal / day; 9-valent serum (Uralbiovet), once at a dose of 50.0 ml / goal. The treatment was carried out until the clinical signs completely disappeared. In order to assess the degree of influence of the additive used on the composition of the intestinal microflora, stool samples were examined using a bacteriological method. The conducted studies have shown high preventive effectiveness from the use of the probiotic supplement "GidroLaktiV", which is characterized by a decrease in the incidence rate and a shortening of the recovery time. The supplement used has a positive effect on the formation of the intestinal microbiome of calves. This is manifested by a decrease in the amount of *E. coli* and *staphylococcus* in its composition, which indicates its antagonistic activity to conditionally pathogenic flora, as well as an increase in the level of lactobacilli.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Влияние тимогена на иммунную систему поросят при неспецифической бронхопневмонии / С. И. Лютинский, О. В. Крячко, В. Х. Хавинсон, С. В. Серый // Ветеринария. – 1991. – № 9. – С. 30-32.
2. Дроздова, Л. И. Оценка влияния антибактериальных и пробиотических препаратов на морфологические изменения в организме цыплят-бройлеров / Л. И. Дроздова, М. В. Новикова, И. А. Лебедева, У. И. Кундрюкова // Известия Международной академии аграрного образования. – 2022. – № 60. – С. 68-74.
3. Крячко, О. В. Влияние технологического стресса на иммунологическую реактивность поросят / О. В. Крячко, А. О. Будник // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 155-161. – DOI

10.17238/ISSN2072-2419.2020.2.155.

4. Новикова, М. В. Внедрение пробиотиков в индустриальное птицеводство и животноводства качестве эволюционно-биологического элемента природоподобных технологий / М. В. Новикова, И. А. Лебедева, Л. И. Дроздова // Птица и птицепродукты. – 2022. – № 3. – С. 28-31. – DOI 10.30975/2073-4999-2022-24-3-28-31.

5. Прусаков, А. В. Болезни пищеварительной системы животных: Курс лекций для студентов очной, очно-заочной, заочной форм обучения по дисциплине "Внутренние незаразные болезни" / А. В. Прусаков, А. В. Яшин, М. С. Голодяева. – Санкт-Петербург: Культурно-просветительское товарищество, 2022. – 86 с.

6. Пудовкин, Д. Н. Болезни молодняка крупного рогатого скота : Практические рекомендации / Д. Н. Пудовкин, С. В. Щепеткина, Л. Ю. Карпенко, О. А. Ришко. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2016. – 182 с.

7. Саврасов, Д. А. Клиническая картина антенатальной гипотрофии у телят / Д. А. Саврасов // Вклад молодых ученых в развитие аграрной науки в начале XXI века : Материалы Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 90-летию Воронежского государственного аграрного университета им. К.Д. Глинки, Воронеж, 21–23 мая 2003 года / Редакционная коллегия: А.В. Востроилов, К.С. Терновой, В.Г. Широкобоков, В.А. Федотов, Н.Т. Павлюк, В.Д. Иванов, Н.Г. Мязин, Н.А. Кузнецов, В.Д. Постолюк, А.Г. Нежданов, В.А. Черванев, В.П. Гребнев, А.П. Тарасенко, В.И. Манжесов. Том Часть II. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2003. – С. 143-144.

8. Трушкин, В. А. Основные биохимические показатели крови телят при энтеритах / В. А. Трушкин // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ. - Санкт-Петербург, 2010. –

С. 87-88.

9. Шавров, С. С. Эффективность применения пробиотика «Бифидум-СХЖ» при лечении диспепсии неспецифической этиологии у молодняка крупного рогатого скота / С. С. Шавров, А. В. Прусаков // Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение : , Брянск, 25–26 марта 2021 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2021. – С. 432-436.

10. Яшин, А. В. Незаразная патология крупного рогатого скота в хозяйствах с промышленной технологией/ А. В. Яшин, А. В. Прусаков, И. И. Калужный, С. П. Ковалев, С. Н. Копылов, В. Н. Динисенко, В. Д. Раднатаров, А. А., Эленшлегер, Г. В. Кляков // учебное пособие для СПО. Санкт-Петербург: Лань, 2021. – 220 с.

11. Bongaerts, G. P. The beneficial antimicrobial effects of probiotics / G. P. Bongaerts // Med. Hypotheses. – 2001. – Vol. 56. - №2. – P. 174-177.

REFERENCES

1. The effect of thymogen on the immune system of piglets with nonspecific bronchopneumonia / S. I. Lyutinsky, O. V. Kryachko, V. H. Khavinson, S. V. Gray // Veterinary medicine. 1991. No. 9. pp. 30-32.

2. Drozdova, L. I. Evaluation of the effect of antibacterial and probiotic drugs on morphological changes in the body of broiler chickens / L. I. Drozdova, M. V. Novikova, I. A. Lebedeva, U. I. Kundryukova // Proceedings of the International Academy of Agrarian Education. - 2022. – No. 60. – pp. 68-74.

3. Kryachko, O. V. The influence of technological stress on the immunological reactivity of piglets / O. V. Kryachko, A. O. Budnik // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2020. – No. 2. – pp. 155-161. – DOI 10.17238/ISSN2072-2419.2020.2.155.

4. Novikova, M. V. Introduction of probiotics into industrial poultry and animal husbandry as an evolutionary and biological element of nature-like technologies / M. V. Novikova, I. A. Lebedeva, L. I. Drozdova // Poultry and poultry products. – 2022. – No. 3. – pp. 28-31. – DOI 10.30975/2073-4999-2022-24-3-28-31.

5. Prusakov, A.V. Diseases of the digestive system of animals: A course of lectures for full-time, part-time, and part-time students in the discipline "Internal non-infectious diseases" / A.V. Prusakov, A.V. Yashin, M. S. Golodyaeva. Saint Petersburg: Cultural and Educational Association, 2022. 86 p.
6. Pudovkin, D. N. Diseases of young cattle: Practical recommendations / D. N. Pudovkin, S. V. Shchepetkina, L. Y. Karpenko, O. A. Rishko. Saint Petersburg: Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2016. 182 p.
7. Savrasov, D. A. Clinical picture of antenatal hypotrophy in calves / D. A. Savrasov // Contribution of young scientists to the development of agricultural science in the early 21st century : Proceedings of the Interregional scientific and practical conference of young scientists and specialists dedicated to the 90th anniversary of the Voronezh State Agrarian University named after K.D. Glinka, Voronezh, May 21-23, 2003 Editorial board: A.V. Vostroilov, K.S. Ternovoy, V.G. Shirokobokov, V.A. Fedotov, N.T. Pavlyuk, V.D. Ivanov, N.G. Myazin, N.A. Kuznetsov, V.D. Postolov, A.G. Nezhdanov, V.A. Chervanev, V.P. Grebnev, A.P. Tarasenko, V.I. Manzhesov. Part II. Voronezh: Voronezh State Agrarian University named after Peter the Great's Operator, 2003. pp. 143-144.
8. Trushkin, V. A. Basic biochemical parameters of calf blood in enteritis / V. A. Trushkin // Proceedings of the international scientific conference of the faculty, researchers and graduate students of St. Petersburg State University. - St. Petersburg, 2010. - pp. 87-88.
9. Shavrov, S. S. The effectiveness of the use of the probiotic "Bifidum-SHZH" in the treatment of dyspepsia of nonspecific etiology in young cattle / S. S. Shavrov, A.V. Prusakov // Problems of intensive development of animal husbandry and their solution: Bryansk, March 25-26, 2021. Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2021. pp. 432-436.
10. Yashin, A.V. Non-infectious pathology of cattle in farms with industrial technology/ A.V. Yashin, A.V. Prusakov, I. I. Kalyuzhny, S. P. Kovalev, S. N. Kopylov, V. N. Dinisenko, V. D. Radnatarov, A. A., El-lenshleger, G. V. Klyakov // textbook for PDF. Saint Petersburg: Lan Publ., 2021. 220 p.
11. Bongerts, G. P. Beneficial antimicrobial effects of probiotics / G. P. Bongerts // Medicine. Hypotheses. - 2001. - Volume 56. - No. 2. - pp. 174-177.

УДК: 577.112:616-002.1:616.24-002:636.7/.8

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.391

ИЗМЕНЕНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО АМИЛОИДА А КОШЕК И С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА СОБАК ПРИ ПНЕВМОНИЯХ

Градова Ю.В.* – асп. (ORCID 0009-0000-6616-0697); Ковалев С.П. – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. клинической диагностики (ORCID 0000-0001-9130-164X).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*bushik.dog@yandex.ru

Ключевые слова: пневмония собак и кошек, острофазные белки воспаления.
Key words: pneumonia in dogs and cats, acute-phase inflammatory proteins.

Поступила: 04.04.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Полноценная диагностика пневмонии должна включать в себя тестирование на определение уровня острофазных белков воспаления. У собак широкое распространение получил С-реактивный белок, концентрация которого возрастает уже через 6-8 часов после начала воспаления. У кошек – сывороточный амилоид А, концентрация которого возрастает через 24-48 часов после начала воспаления. В настоящее время для определения уровня острофазных белков воспаления распространен метод иммунофлюоресценции. Авторы сравнили уровни острофазных белков воспаления у здоровых животных и больных животных (до и после лечения). Выявлено статистически достоверное различие между больными до лечения и здоровыми животными. Между выздоровевшими и здоровыми кошками выявлено статистически достоверное различие. Между выздоровевшими и здоровыми собаками статистически достоверных различий не выявлено. Уровень сывороточного амилоида А у заболевших кошек достоверно возрастал в 8 раз относительно здоровых ($p < 0,01$), а при выздоровлении возвращался к нормативным значениям, но был достоверно выше на 32,6 %, чем у здоровых животных ($p < 0,01$). Уровень С-реактивного белка у заболевших собак достоверно возрастал в 7,6 раз относительно здоровых собак ($p < 0,01$), а при выздоровлении возвращался к нормативным значениям и не имел достоверной разницы со здоровыми животными. Определение концентрации С-реактивного белка собак и сывороточного амилоида А у кошек до начала терапии и после антибиотикотерапии помогает принять решение о продлении лечения в случае необходимости и являются одним из критериев успешности терапии.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Заболевания органов дыхания широко распространены у всех видов животных [2, 14, 15]. Для диагностики пневмоний используются не только основные методы исследования, но и инструментальные и лабораторные методы. Наиболее часто встречаются рентгенография [3, 6, 10, 11, 13], а в последнее время и компьютерная диагностика [13], набирают популярность также ультразвуковое исследование легких [4, 10] и пульсоксиметрия [15], как более простые и доступные методы. Однако нельзя поставить диагноз только по наличию характерных изменений на рентгенограмме, сонограмме и т.д. Для постановки диагноза «пневмония» необходимо диагностировать наличие воспаления [15, 16]. Среди косвенных признаков воспаления выделяют лихорадку при термометрии и диспноэ. При исследовании общего анализа крови наблюдается значительная вариативность – потребность в нейтрофилах возрастает, и результат анализа зависит от того, как быстро проводится анализ крови после начала болезни, может наблюдаться как лейкоцитоз, так и лейкоцитопения; среди нейтрофилов могут преобладать как незрелые формы («сдвиг влево»), так и зрелые формы («сдвиг вправо») [5, 15]. Но достоверно определить наличие воспалительного процесса в организме мелких домашних животных на данный момент можно только при обнаружении повышенного количества острофазных положительных воспалительных белков. Под влиянием провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-альфа) концентрация острофазных воспалительных белков повышается более чем на 25 % у животных с наличием воспалительного заболевания. К острофазным положительным воспалительным белкам относят следующие: С-реактивный белок (СРБ, определяют у собак), сывороточный амилоид А (САА, определяют у кошек), гаптоглобин [1, 5, 8-11, 16, 17], церулоплазмин [1], α 2-макроглобулин, кислый α -гликопротеин [5], фибриноген [2], белки системы комплемента С3 и С4 [5]. При наличии воспаления их концентра-

ция в крови возрастает быстрее (СРБ - в первые 6-8 часов у собак, САА - 24-48 часов у кошек), чем возникает выраженный сдвиг в лейкограмме, что делает СРБ и САА полезным инструментом в диагностике любого воспалительного процесса, в том числе и пневмонии. После разрешения воспалительного процесса количество острофазных белков быстро приходит к нормативным значениям [5].

Бактериальное обсеменение и развитие воспалительного ответа – общее звено в любом типе пневмонии. Определение уровня острофазных белков может быть решающим для принятия решения об отмене или продолжении антибиотикотерапии [12, 16].

Положительная прогностическая ценность СРБ при бактериальной пневмонии составила 100% при концентрации выше 100 мг/л. И отрицательная прогностическая ценность также составила 100% при нормальной концентрации СРБ при наличии симптомов в течение 24 часов и более [5].

Цель данной работы – исследовать САА и СРБ у здоровых кошек и собак, а также при острой фазе пневмонии и после выздоровления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на базе трех ветеринарных клиник Санкт-Петербурга в период с сентября 2023 года по февраль 2025 года (1,5 года). За данный период обследовано более тысячи животных с респираторными симптомами (кашель, одышка, чихание).

Сформировано четыре группы по 20 животных (всего 80 животных) возрастом 1-16 лет:

- здоровые собаки,
- здоровые кошки,
- больные собаки,
- больные кошки.

У здоровых животных в крови уровень острофазных белков воспаления исследовались однократно.

У больных животных тестирование проводилось двукратно: в начале болезни и после курса лечения (у 80 % больных

животных курс лечения антибиотиком и сопутствующими симптоматическими и патогенетическими препаратами составил 14 дней, у 20 % больных животных курс лечения продлился из-за медленного выздоровления). Исключение составили умершие от пневмонии животные (2 кошки, 4 собаки).

Для определения уровня острофазных белков воспаления использовался метод иммунной флюоресценции с помощью анализаторов компаний SD Biosensor (Южная Корея) и Wondfo (КНР). Реакция основана на связывании острофазных белков воспаления со специфическими антителами на эти белки собак и кошек. Антитела к острофазным белкам воспаления собак и кошек конъюгированы с флюорохромом на тестовой полоске. В результате проведения данного исследования образовывался флюоресцирующий комплекс «антиген – антитело», который выявлялся анализатором SD Biosensor или Wondfo. По количеству комплексов анализатор определял концентрацию

острофазных белков воспаления у собак и кошек.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью MS EXCEL, все выборки подчинялись закону нормального распределения. Достоверность определялась с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Полученные данные представлены в таблицах 1 и 2.

Как видно из таблицы 1, уровень СРБ у заболевших собак достоверно возрастал в 7,6 раз относительно здоровых собак ($p < 0,01$), а при выздоровлении возвращался к нормативным значениям и не имел достоверной разницы со здоровыми животными.

Как видно из таблицы 2, уровень САА у заболевших кошек достоверно возрастал в 8 раз относительно здоровых ($p < 0,001$), а при выздоровлении возвращался к нормативным значениям, но был достоверно выше на 32,6 %, чем у здоровых животных ($p < 0,01$).

Таблица 1 – Уровень С-реактивного белка у собак

Группы животных	Результат (референсный интервал 0-20 мг/л)
Здоровые животные	12,2±0,6
Больные до лечения	91,1±9,7
Больные после лечения	13,3±1,3

Примечание: Уровень достоверности (P) выведен: P1 < 0,01 – при сравнении показателей у здоровых животных и больных до лечения; P2 > 0,05 – при сравнении показателей здоровых животных и больных после лечения; P3 < 0,01 – при сравнении больных животных до и после лечения.

Таблица 2 – Уровень сывороточного амилоида А у кошек

Группы животных	Результат (референсный интервал 0-10 мкг/мл)
Здоровые животные	6,0±0,4
Больные до лечения	48,4±4,9
Больные после лечения	8,9±0,5

Примечание: Уровень достоверности (P) выведен: P1 < 0,001 – при сравнении показателей у здоровых животных и больных до лечения; P2 > 0,05 – при сравнении показателей здоровых животных и больных после лечения; P3 < 0,001 – при сравнении больных животных до и после лечения.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Уровень острофазных белков воспаления у кошек и собак достоверно различался между больными (в начале лечения) и здоровыми животными. Несмотря на значительное снижение САА у больных кошек к окончанию срока лечения, его уровень оставался достоверно выше по сравнению со здоровыми животными, хоть и находился в пределах нормативных значений. Тогда как у выздоровевших собак показатель СРБ достиг нормативных значений и не имел достоверной разницы с показателем у здоровых животных. Исходя из этого, лечение пневмонии у заболевших животных можно было считать успешным и завершённым. Определение уровня острофазных белков является полезным для диагностики воспалительных заболеваний легких. В связи с высокой стоимостью импортных диагностикумов для определения СРБ и САА, является перспективной и важной задачей разработка отечественных тестовых систем для их определения, что позволит снизить затраты на проведение данных исследований и повысить их доступность.

CHANGES IN FELINE SERUM AMYLOID A AND CANINE C-REACTIVE PROTEIN WITH PNEUMONIA

Gradova Yu.V.* – postgraduate student (ORCID 0009-0000-6616-0697); **Kovalev S.P.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Clinical Diagnostics (ORCID 0000-0001-9130-164X).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*bushik.dog@yandex.ru

ABSTRACT

A full-fledged diagnosis of pneumonia should include testing for the level of acute-phase inflammatory proteins. C-reactive protein is widespread in dogs, and its concentration increases as early as 6-8 hours after the onset of inflammation. Cats have serum amyloid A, whose concentration increases 24-48 hours after the onset of inflam-

mation. Currently, the immunofluorescence method is widely used to determine acute-phase inflammatory proteins. The authors compared the levels of acute-phase inflammatory proteins in healthy animals and sick animals (before and after treatment). A statistically significant difference was revealed between patients before treatment and healthy animals. A statistically significant difference was found between recovered and healthy cats. There were no statistically significant differences between recovered and healthy dogs. The level of serum amyloid A in sick cats significantly increased 8-fold relative to healthy ones ($p<0.01$), and upon recovery returned to the standard values, but was significantly higher by 32.6% than in healthy animals ($p<0.01$). The level of C-reactive protein in sick dogs significantly increased by 7.6 times relative to healthy dogs ($p<0.01$), and upon recovery returned to the standard values and had no significant difference with healthy animals. Determining the concentration of C-reactive protein in dogs and serum amyloid A in cats before starting therapy and after antibiotic therapy helps to decide whether to extend treatment if necessary and is one of the criteria for the success of therapy.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.Крячко, О. В. Апробация методики определения концентрации плазменного церулоплазмينا у собак / О. В. Крячко, А. В. Чарторийкая // Студенческая научно-практическая конференция «АПК – молодежь, наука, инновация». – 2024. – Р. 22-26. – doi: 10.36684/123-1-2024-22-26.
- 2.Крячко, О. В. Уровень фибриногена как показатель тяжести течения воспаления легких у свиней / О. В. Крячко // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 23–27 января 2017 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2017. – С. 40-41.
- 3.Никулин, И. А. Ветеринарная рентгенология / И.А. Никулин и др. – СПб., 2023.

- 208 с.
4. Пенник, Д., д'Анжу, М.-А. Атлас по ультразвуковой диагностике. Исследования у собак и кошек / пер. с англ. М.: «Аквариум-Принт», 2015. – 504 с.
5. Радюк, Е. В. Маркеры воспаления в диагностике пневмонии // Сборник материалов XXXII московского международного ветеринарного конгресса. Москва, 2024. – С. 23-30.
6. BSAVA Manual of Canine and Feline Cardiorespiratory Medicine. 2-nd ed. India: Parksons Graphics, 2016. – 300 p.
7. BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. 2-nd ed. India: Replika Press, 2012. – 354 p.
8. Burnotte, P. A retrospective study on parapneumonic effusion in 130 dogs with a clinical diagnosis of pneumonia / P. Burnotte, N. Graziano, K. Gommeren // Front Vet Sci. – 2023. – № 10. – P.1144148. – doi: 10.3389/fvets.2023.1144148.
9. Canine and Feline Respiratory Medicine, 2 ed. – USA: John Wiley & Sons, 2020. – 220 p.
10. Fernandes Rodrigues, N. Comparison of lung ultrasound, chest radiographs, -reactive protein, and clinical findings in dogs treated for aspiration pneumonia / N. Fernandes Rodrigues, L. Giraud, G. Bolen // J Vet Intern Med. – 2022. – № 36 (2). – P. 743-752. – doi: 10.1111/jvim.16379.
11. Menard, J. Serial evaluation of thoracic radiographs and acute phase proteins in dogs with pneumonia / J. Menard, I. Porter, A. Lerer [et al.] // J Vet Intern Med. – 2022. – №36 (4). – P. 1430-1433. – doi: 10.1111/jvim.16448. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35616241>.
12. Rodrigues, N. F. Antimicrobial discontinuation in dogs with acute aspiration pneumonia based on clinical improvement and normalization of C-reactive protein concentration / N. F. Rodrigues, L. Giraud, G. Bolen [et al.] // J Vet Intern Med. – 2022 – № 36 (3). – P. 1082-1088. – doi: 10.1111/jvim.16405.
13. Schwarz, T. BSAVA Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging, 2-nd ed. / T. Schwarz, P.V. Scrivani. – 2024. – 396 p.
14. Smith, F. W. Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult. Canine and Feline, 7-th ed. / F. W. Smith, K.L.P. Tilley. – Wiley-Blackwell, 2021. – 1730 pp.
15. Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat, 8-th ed. – USA: Elsevier, 2017. – 3821 p.
16. Viitanen, S. J. Serum C-Reactive Protein as a Diagnostic Biomarker in Dogs with Bacterial Respiratory Diseases / S. J. Viitanen, H. P. Laurila, L. I. Lilja-Maula [et al.] // J Vet Intern Med. – 2014. – № 28 (1). – P. 84-91. – doi: 10.1111/jvim.12262.
17. Yuki, M. A Clinical Investigation on Serum Amyloid A Concentration in Client-Owned Healthy and Diseased Cats in a Primary Care Animal Hospital / M. Yuki, R. Aoyama, M. Nakagawa [et al.] // Vet. Sci. – 2020. – № 7 (2). – P. 45.

REFERENCES

1. Kryachko, O. V. Approbation of a method for determining plasma ceruloplasmin concentration in dogs / O. V. Kryachko, A.V. Chartoriykaya // Student scientific and practical conference "Agroindustrial complex - youth, science, innovation". – 2024. – P. 22-26. – DOI: 10.36684/123-1-2024-22-26.
2. Kryachko, O. V. The level of fibrinogen as an indicator of the severity of lung inflammation in pigs / O. V. Kryachko // Proceedings of the international scientific conference of the faculty, researchers and postgraduates of St. Petersburg State University of Economics, St. Petersburg, January 23-27, 2017. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2017. – pp. 40-41.
3. Nikulin, I. A. Veterinary radiology / I.A. Nikulin et al. – St. Petersburg, 2021. – 208 p.
4. Pennik, D., Danzhu M.-A. Atlas of ultrasound diagnostics. Research in dogs and cats / translated from English. Moscow: Aquarium-Print, 2015. – 504 p.
5. Radyuk, E. V. Markers of inflammation in the diagnosis of pneumonia // Proceedings of the XXXII Moscow International Veterinary Congress. Moscow, 2024. pp. 23-30.
6. BSAVA Manual of Canine and Feline Cardiorespiratory Medicine. 2-nd ed. India: Parksons Graphics, 2016. – 300 p.

7. BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. 2-nd ed. India: Replika Press, 2012. – 354 p.
8. Burnotte, P. A retrospective study on parapneumonic effusion in 130 dogs with a clinical diagnosis of pneumonia / P. Burnotte, N. Graziano, K. Gommeren // Front Vet Sci. – 2023. – № 10. – P.1144148. – doi: 10.3389/fvets.2023.1144148.
9. Canine and Feline Respiratory Medicine, 2 ed. – USA: John Wiley & Sons, 2020. – 220 p.
10. Fernandes Rodrigues, N. Comparison of lung ultrasound, chest radiographs, -reactive protein, and clinical findings in dogs treated for aspiration pneumonia / N. Fernandes Rodrigues, L. Giraud, G. Bolen // J Vet Intern Med. – 2022. – № 36 (2). – P. 743-752. – doi: 10.1111/jvim.16379.
11. Menard, J. Serial evaluation of thoracic radiographs and acute phase proteins in dogs with pneumonia / J. Menard, I. Porter, A. Lerer [et al.] // J Vet Intern Med. – 2022. – №36 (4). – P. 1430-1433. – doi: 10.1111/jvim.16448. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35616241>.
12. Rodrigues, N. F. Antimicrobial discontinuation in dogs with acute aspiration pneumonia based on clinical improvement and normalization of C-reactive protein concentration / N. F. Rodrigues, L. Giraud, G. Bolen [et al.] // J Vet Intern Med. – 2022 – № 36 (3). – P. 1082-1088. – doi: 10.1111/jvim.16405.
13. Schwarz, T. BSAVA Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging, 2-nd ed. / T. Schwarz, P.V. Scrivani. – 2024. – 396 p.
14. Smith, F. W. Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult. Canine and Feline, 7-th ed. / F. W. Smith, K.L.P. Tilley. – Wiley-Blackwell, 2021. – 1730 pp.
15. Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat, 8-th ed. – USA: Elsevier, 2017. – 3821 p.
16. Viitanen, S. J. Serum C-Reactive Protein as a Diagnostic Biomarker in Dogs with Bacterial Respiratory Diseases / S. J. Viitanen, H. P. Laurila, L. I. Lilja-Maula [et al.] // J Vet Intern Med. – 2014. – № 28 (1). – P. 84-91. – doi: 10.1111/jvim.12262.
17. Yuki, M. A Clinical Investigation on Serum Amyloid A Concentration in Client-Owned Healthy and Diseased Cats in a Primary Care Animal Hospital / M. Yuki, R. Aoyama, M. Nakagawa [et al.] // Vet. Sci. – 2020. – № 7 (2). – P. 45.

УДК: 616.74-018.38-085:615.844.6:636.1

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.397

ТЕРАПИЯ ФИБРОЗОВ СУХОЖИЛИЙ КОНЕЧНОСТЕЙ У ЛОШАДЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЕКАРСТВЕННОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА СО СРЕДСТВОМ «ФЕРМЕНКОЛ»

Кострова А.А.* – асп., каф. фармакологии и токсикологии

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*Kostrova999as@gmail.com

Ключевые слова: лекарственный электрофорез, терапия, фармакология, фиброзы, лошади.

Key words: iontophoresis, therapy, pharmacology, fibrosis, horses.

Поступила: 25.05.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Сухожилия сгибателей пальцев несут огромную нагрузку у спортивных лошадей любых направлений. У спортивных лошадей наиболее часто регистрируются повреждения сухожилий глубокого и поверхностного сгибателей пальца, что является причиной как временной, так и рецидивирующей или постоянной хронической хромоты и во многих случаях приводит к завершению спортивной карьеры или переходу лошади в любительский спорт. Сухожилия имеют очень медленную скорость регенерации, и при этом происходит замещение нормальной ткани фиброзной. Фиброзы, рубцы, контрактуры и другие хронические патологии являются достаточно частым последствием острых заболеваний и травм. К классическим методам терапии дегенеративных патологий сухожилий конечностей относятся: тенотомия, ортопедическая ковка и физиотерапия. Физиотерапия является наиболее эффективным методом лечения и реабилитации при фиброзах и других дегенеративных патологиях сухожилий конечности лошади. Такие методы как ударно-волновая, лазерная и магнитная терапия, введение тромбоцитарной аутоплазмы и так далее уже успешно применяются в ветеринарии и доказали свою эффективность. Одним видом физиотерапии, который может быть использован в терапии является электрофорез. Цель исследования – выявление клинической эффективности лечебного электрофореза со средством «Ферменкол» при разных протоколах процедур. Исследование было проведено на 8 головах лошадей. Всего каждая лошадь проходила 3 курса лекарственного электрофореза. Результаты регистрировались с помощью УЗИ. У 6 голов диаметр сухожилий вернулся к нормальным значениям (<1,5 см) к концу третьего курса процедур. Использование лекарственного электрофореза со средством «Ферменкол» оказывает положительное влияние на фиброзированные ткани сухожилий сгибателей грудных конечностей у лошадей. Так же, данный метод терапии имеет ряд преимуществ в отличии от принятых способов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Сухожилия сгибателей пальцев несут огромную нагрузку у спортивных лошадей любых направлений. Что часто приводит к травмам различной степени [1, 2]. В литературе можно найти описание более 190 ортопедических заболеваний лошадей, приводящих к разной степени хромоты. Из них более 25% относятся к поражениям сухожилий и сухожильных влагалищ сгибателей пальца. А по данным зарубежных исследователей частота встречаемости таких патологий может достигать до 42%. Преимущественно страдали грудные конечности (62%), на тазовые приходилось лишь 29% [3, 4, 5, 14].

У спортивных лошадей наиболее часто регистрируются повреждения сухожилий глубокого и поверхностного сгибателей пальца, что является причиной как временной, так и рецидивирующей или постоянной хронической хромоты и во многих случаях приводит к завершению спортивной карьеры или переходу лошади в любительский спорт.

Сухожилия имеют очень медленную скорость регенерации, и при этом происходит замещение нормальной ткани фиброзной. Данные изменения возможно избежать только при тщательной и своевременной терапии и реабилитации. К сожалению, это дорогостоящий и длительный процесс, и не у всех владельцев есть возможность ему следовать. Таким образом, фиброзы, рубцы, контрактуры и другие хронические патологии являются достаточно частым последствием острых заболеваний и травм.

К классическим методам терапии дегенеративных патологий сухожилий конечностей относятся: тенотомия, ортопедическаяковка и физиотерапия. [6, 7, 8, 13] К тенотомии (резекции сухожилия) прибегают в случаях крайней степени выраженности патологии, когда она доставляет дискомфорт лошади даже при отсутствии моциона [7, 13]. Данная операция имеет ряд рисков и при этом не гарантирует улучшение состояния лошади. Ортопедическаяковка является лишь

способом облегчения последствий фиброза, и призвана снимать лишнее напряжение на сухожильные волокна [15]. При этом терапевтического действия не происходит.

Физиотерапия является наиболее эффективным методом лечения и реабилитации при фиброзах и других дегенеративных патологиях сухожилий конечности лошади [16]. Такие методы как ударно-волновая, лазерная и магнитная терапия, введение тромбоцитарной аутоплазмы и так далее уже успешно применяются в ветеринарии и доказали свою эффективность. [8, 9, 10]. Основа их эффекта состоит в «обострении» хронического процесса и активизации регенеративных сил организма на его восстановление. При этом вызывается контролируемое локальное воспаление в патологическом очаге, благодаря которому ткани восстанавливают необходимую структуру.

Еще одним видом физиотерапии, который может быть использован в терапии является электрофорез. Данный метод основан на взаимодействии постоянного электрического тока с молекулами лекарственного препарата, что способствует их активизации и более глубокому проникновению в ткани организма. [11] Нами был исследован еще один метод физиотерапии – лечебный электрофорез с ферментным средством «Ферменкол». Данный метод способствует преобразованию фиброзной соединительной ткани в сухожильную с минимальным воспалительным процессом.

Цель исследования – выявление клинической эффективности лечебного электрофореза со средством «Ферменкол» при разных протоколах процедур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на конюшнях Санкт-Петербург и Ленинградской области. Всего было отобрано 8 голов разных пород, возраста, физической подготовки и пола. У всех лошадей было подтверждено наличие дегенеративных патологий сухожилий сгибателей передних конечностей с использованием ультра-

звукового исследования.

В процессе исследования лошадям не меняли моцион, не снижали нагрузку. Никаких других лекарственных препаратов не использовали и физиотерапевтических процедур не проводили.

Лечебный электрофорез проводили со средством «Ферменкол» в концентрации 0,02%. Использовали стандартный протокол процедуры: 20 минут с силой тока 4,5-5,5 мА. Всего курс состоял из 5 процедур, которые проводили на каждый 2-3 день. После завершения курса следующий начинали не ранее чем через 2 недели. Все лошади прошли 3 курса лекарственного электрофореза.

По завершению каждого курса спустя 2 недели проводили УЗИ исследуемых сухожилий для фиксирования результата. Анализировали диаметр и структуру тканей сухожилия, а также перисухожильного пространства. Для более объективной оценки изменения диаметра сухожилий определяли примерный массу тела каждой лошади. Для этого использовали формулу, разработанную Платоновой Н.П. и Дзеверин И.И. [12]:

$$BW = -867,47 + 37,82 \cdot W + 53,01 \cdot B + 3,74 \cdot BL + 3,95 \cdot GC$$

Где BW – масса тела (кг); W – фиктивная переменная: 0 для верховых и рысистых лошадей, 1 – для тяжеловозов; B – фиктивная переменная: 1 – для лошадей 5 лет и старше 0 – для лошадей младше 5 лет; BL – длина корпуса от плечевого сустава до седалищных бугров (см); GC – обхват груди (см).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты измерений диаметров сухожилий сгибателей у исследуемых лошадей представлены в таблице 1.

По полученным измерениям прослеживается положительная динамика по уменьшению диаметра сухожилий сгибателей грудных конечностей. У 6 голов данный показатель вернулся к нормальным значениям (<1,5 см) к концу третьего курса процедур. При этом у двух лошадей диаметр сухожилия стал меньше 1,5 см уже после 2 курса.

В среднем за 1 курс диаметр уменьшался на 0,12 см, с минимальным значением – 0,02 см, и максимальным – 0,38 см. За все 3 курса среднее изменение размера сухожилия составила 0,39 см, с минимальным значением – 0,23 см, и максимальным – 0,61 см. Динамика среднего изменения диаметра сухожилий показана на рисунке 1.

По данному рисунку можно сделать вывод, что эффект от процедуры оказывается одинаково на разных курсах и имеет линейный характер.

Так же у двух лошадей дополнительно проводили измерение перисухожильного пространства. У данных животных оно было увеличено из-за разраста соединительной ткани после травмы. До начала исследования размер перисухожильного пространства составлял более 1,5 см. После 1 курса средние значения снизились до 1,2 см, после 2 курса – до 1 см, и в конце размер перисухожильного пространства у двух лошадей составлял 0,38 см и 0,5 см.

Таблица 1 – Диаметр сухожилий сгибателей у исследуемых лошадей в течение эксперимента (в см)

№ животного	Вес животного (кг)	До лечения (см)	После 1 курса (см)	После 2 курса (см)	После 3 курса (см)
1.	572	1,83	1,63	1,61	1,40
2.	630	1,93	1,80	1,64	1,48
3.	473	1,58	1,55	1,48	1,35
4.	614	1,93	1,68	1,54	1,52
5.	587	1,97	1,70	1,64	1,58
6.	506	1,73	1,66	1,48	1,39
7.	591	2,20	2,12	1,98	1,92
8.	489	2,08	1,97	1,59	1,47
Среднее значение	558	1,91	1,76	1,62	1,51

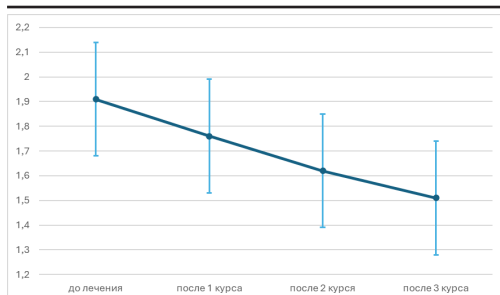


Рисунок 1 – Динамика среднего изменения диаметра сухожилий сгибателей у исследуемых лошадей в течение эксперимента.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, использование лекарственного электрофореза со средством «Ферменкол» оказывает положительное влияние на фиброзированные ткани сухожилий сгибателей грудных конечностей у лошадей. Так же, данный метод терапии имеет ряд преимуществ в отличии от принятых способов (тенотомия, ортопедическая ковка) в виде, неинвазивности, безболезненности, отсутствие необходимости вывода лошади из тренинга и экономической эффективности.

THERAPY OF TENDONS FIBROSIS IN HORSES USING IONTOPHORESIS WITH THE MEDICINE "FERMENKOL"

Kostrova A.A.* – postgraduate, department pharmacology and toxicology
St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*Kostrova999as@gmail.com

ABSTRACT

The digital flexor tendons bear enormous strain in sport horses of all types. In sport horses, the most common injuries are to the tendons of the deep and superficial digital flexors, which is the cause of both temporary and recurrent or permanent chronic lameness and in many cases leads to the end of a sports career or the transition of the horse to amateur sports. Tendons have a very slow regeneration rate, and normal tissue is

replaced by fibrous tissue. Fibrosis, scars, contractures and other chronic pathologies are quite common consequences of acute diseases and injuries. Classical methods of therapy of degenerative pathologies of limb tendons include: tenotomy, orthopedic shoeing and physiotherapy. Physiotherapy is the most effective method of treatment and rehabilitation for fibrosis and other degenerative pathologies of the tendons of the horse's limb. Such methods as shock wave, laser and magnetic therapy, the introduction of platelet autoplasm, etc. are already successfully used in veterinary medicine and have proven their effectiveness. One type of physiotherapy that can be used in therapy is iontophoresis. The aim of the study was to identify the clinical effectiveness of iontophoresis with the drug "Fermencol" under different protocols of procedures. The study was conducted on 8 heads of horses. In total, each horse underwent 3 courses of iontophoresis. The results were recorded using ultrasound. In 6 heads, the tendon diameter returned to normal values (<1.5 cm) by the end of the third course of procedures. The use of iontophoresis with the drug "Fermencol" has a positive effect on fibrotic tissues of the flexor tendons of the thoracic limbs in horses. Also, this method of therapy has a number of advantages over the commonly accepted ways.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Титова, Е. В. Травматизм лошадей в условиях города Тюмени / Е. В. Титова, Е. Н. Маслова, А. А. Котова // Сборник статей II всероссийской (национальной) научно-практической конференции "Современные научно-практические решения в АПК", Тюмень, 26 октября 2018 года / Государственный аграрный университет Северного Зауралья. Том Часть 1. – Тюмень: ФГБОУ ВО Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2018. – С. 193-196.
2. Жукова, М. В. Инцидентность травм сухожилия поверхностного сгибателя пальца у спортивных лошадей / М. В. Жукова, Е. Н. Борхунова, Э. К. Гасангусейнова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии

- и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения : Сборник трудов 2-й Научно-практической конференции, Москва, 23 июня 2023 года / Под общей редакцией С.В. Позябина, Л.А. Гнездиловой. – Москва: Сельскохозяйственные технологии, 2023. – С. 35-36.
3. Ковач М. Ортопедические заболевания лошадей: современные методы диагностики и лечения. – М.: Королевский издательский дом, 2017. – 610 с.
4. Говорова, М. А. Нюансы диагностики патологии среднего межкостного мускула у лошадей / М. А. Говорова, О. И. Динченко // проблемы и перспективы развития науки в России и мире: сборник статей международной научно-практической конференции: в 7 частях, Уфа, 01 декабря 2016 года. Том Часть 6. – Уфа: Общество с ограниченной ответственностью "Аэтерна", 2016. – С. 125-134.
5. Dyson S., Murray R., Pinilla M.-J. Proximal suspensory desmopathy in hindlimbs: A correlative clinical, ultrasonographic, gross post mortem and histological study. *Equine Veterinary Journal*, 2016; 49(1): 65-72. doi:10.1111/evj.12563
6. Щербак С. Г. Регенеративная реабилитация при повреждениях сухожилий / С. Г. Щербак, С. В. Макаренко, О. В. Шнейдер [и др.] // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. – 2021. – Т. 3, № 2. – С. 192-206. – DOI 10.36425/rehab70760.
7. Калугина, Е. А. Тенотомия глубокого пальцевого сгибателя лошади / Е. А. Калугина // Развитие науки и образования: новые подходы и актуальные исследования: сборник научных трудов по материалам XLVIII Международной научно-практической конференции, Анапа, 25 января 2024 года. – Анапа: Общество с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский центр экономических и социальных процессов» в Южном Федеральном округе, 2024. – С. 25-29.
8. Нохрина, Е. М. Обзор применения лазерной терапии высокой мощности при травмах сухожилия у лошадей / Е. М. Нохрина, Е. Г. Калугина // Современные проблемы паразитарной патологии и иммунологии : Сборник трудов всероссийской научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения академика В.З. Ямова, Тюмень, 09 февраля 2023 года. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2023. – С. 160-169.
9. Chechik O., Dolkart O., Mozes G., et al. Timing matters: NSAIDs interfere with the late proliferation stage of a repaired rotator cuff tendon healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2014;134(4):515–520. doi: 10.1007/s00402-014-1928-5
10. Jacobson J.A., Yablon C.M., Henning P.T., et al. Greater trochanteric pain syndrome: percutaneous tendon fenestration versus platelet-rich plasma injection for treatment of gluteal tendinosis. *J Ultrasound Med.* 2016; 35(11): 2413–2420. doi: 10.7863/ultra.15.11046
11. Самсонова Т. С. Ветеринарная физиотерапия: Учебное пособие для вузов / Т. С. Самсонова, Т. Т. Левицкая, А. Ш. Каримова. — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 360 с.
12. Коробчук М.В. Аналитический обзор косвенных методов оценки живого веса лошадей / М.В. Коробчук // *Science Time*. – 2019. - № 2 (62). – с. 72-94.
13. Семенов Б. С. Оперативная хирургия у животных: учебник для вузов / Б. С. Семенов, В. Н. Виденин, А. Ю. Нечаев [и др.]. — 4-е изд., доп. — Санкт-Петербург: Лань, 2025. — 704 с.
14. Семенов, Б. С. Результаты ультразвукового исследования сухожильно-связочного аппарата у лошадей после дистанционных пробегов / Б. С. Семенов, В. А. Гусева, Т. Ш. Кузнецова // Тенденции развития ветеринарной хирургии : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО ВГАВМ / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. - Витебск: ВГАВМ, 2021. - С. 118-120.
15. Черновал, Д. С. Современные материалы, применяемые в ортопедической ковке лошадей / Д. С. Черновал, А. А. Стекольников // Иппология и ветеринария. —

2016. – № 1(19). – С. 29-31.

16. Стекольников А. А. Физиотерапия в ветеринарной медицине: учебник / А. А. Стекольников, Г. Г. Щербаков, Л. Н. Трудова, Л. Ф. Сотникова — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 372 с.

REFERENCES

1. Titova, E. V. Injury of horses in the conditions of the city of Tyumen / E. V. Titova, E. N. Maslova, A. A. Kotova // Collection of articles of the II All-Russian (national) scientific and practical conference "Modern scientific and practical solutions in agriculture", Tyumen, October 26, 2018 / State Agrarian University of the Northern Urals. Volume Part 1. Tyumen: State Agrarian University of the Northern Urals, 2018, pp. 193-196.
2. Zhukova, M. V. The incidence of injury to the tendon of the superficial flexor of the finger in sports horses / M. V. Zhukova, E. N. N. Borkhunova, E. N. K. Gasanguseynova // Actual problems of veterinary medicine, zootechny, biotechnology and expertise of raw materials and products of animal origin: Proceedings of the 2nd Scientific and Practical Conference, Moscow, June 23, 2023 / edited by S.V. Pozyabin, L.A. Gnezdilova. Moscow: Agricultural Technologies, 2023, pp. 35-36.
3. Kovach M. Orthopedic diseases of horses: modern methods of diagnosis and treatment. Moscow: Royal Publishing House, 2017. 610 p.
4. Govorova, M. A. Nuances of diagnosis of pathology of the middle interosseous muscle in horses / M. A. Govorova, O. I. Dinchenko // Problems and prospects of science development in Russia and the world: collection of articles of the international scientific and practical conference: in 7 parts, Ufa, December 01, 2016. Volume Part 6. Ufa: Aeterna Limited Liability Company, 2016, pp. 125-134.
5. Dyson S., Murray R., Pinilla M.-J. Proximal suspensory desmopathy in hindlimbs: A correlative clinical, ultrasonographic, gross post mortem and histological study. *Equine Veterinary Journal*, 2016; 49(1): 65-72. doi:10.1111/evj.12563
6. S. Shcherbaka, G. Regenerative rehabilitation for tendon injuries / S. G. Shcherbak, S. V. Makarenko, O. V. Schneider [et al.] // Physical and rehabilitation medicine, medical rehabilitation. – 2021. - Vol. 3, No. 2. - pp. 192-206. – DOI 10.36425/rehab70760.
7. Kalugina, E. N. A. Tenotomy of the deep pectoral flexor of a horse / E. A. Kalugina // Development of science and education: new approaches and current research: a collection of scientific papers based on the materials of the XLVIII International Scientific and Practical Conference, Anapa, January 25, 2024. Anapa: Limited Liability Company "Scientific Research Center of Economic and Social Processes" in the Southern Federal District, 2024, pp. 25-29.
8. Nokhrina, E. Ml. Review of the use of high-power laser therapy for tendon injuries in horses / E. Ml. Nokhrina, E. G. Kalugina // Modern problems of parasitic pathology and immunology : Proceedings of the All-Russian scientific and practical conference dedicated to the 90th anniversary of the birth of Academician V.Z. Yamov, Tyumen, February 09, 2023. Tyumen: State Agrarian University of the Northern Urals, 2023, pp. 160-169.
9. Chechik O., Dolkart O., Mozes G., et al. Timing matters: NSAIDs interfere with the late proliferation stage of a repaired rotator cuff tendon healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2014;134(4):515–520. doi: 10.1007/s00402-014-1928-5
10. Jacobson J.A., Yablon C.M., Henning P.T., et al. Greater trochanteric pain syndrome: percutaneous tendon fenestration versus platelet-rich plasma injection for treatment of gluteal tendinosis. *J Ultrasound Med.* 2016; 35(11): 2413–2420. doi: 10.7863/ultra.15.11046
11. Samsonova T. I. Veterinary physiotherapy: A textbook for universities / T. I. Samsonova, T. T. Levitskaya, A. S. Karimova. - St. Petersburg: Lan, 2022. -360 P.
12. Korobchuk M.V. Analytical review of indirect methods for estimating live weight of horses/M.V. Korobchuk // Science Time. – 2019. - № 2 (62). - Pp. 72-94.
13. Semenov B. I. Operative surgery in animals: a textbook for universities / B. I. Se-

menov, V. N. Videnin, A. Yu. Nechaev [et al.]. - 4th ed., supplement. -St. Petersburg: Lan, 2025. -704 P.

14. Semenov, B. I. Results of ultrasound examination of the tendon-ligamentous apparatus in horses after distance running / B. I. Semenov, V. A. Guseva, T. S. Kuznetsova // Trends in the development of veterinary surgery : proceedings of the International scientific and practical conference dedicated to the 95th anniversary of the Department of General, Private and operative

Surgery of the Higher School of Economics / Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine. Vitebsk: VGAVM, 2021, pp. 118-120.

15. Chernoval, D. I. Modern materials used in orthopedic forging of horses / D. I. Chernoval, A. A. Stekolnikov // Hippology and veterinary medicine. – 2016. – № 1(19). - Pp. 29-31.

16. Stekolnikov A. A. Physiotherapy in veterinary medicine: textbook / A. A. Stekolnikov, G. G. Shcherbakov, L. N. Trudova, L. F. Sotnikova-St. Petersburg: Lan, 2022. - 372 p.

УДК: 636.2.085:619:616.34-008.314
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.2.404

КЛИНИЧЕСКАЯ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ *MEDUSOMYCES GISEVII* И ПОЛИСАХАРИДА ПРИ ДИАРЕЕ У ТЕЛЯТ

Бойко Т.В.* – д-р ветеринар. наук, доц., зав. каф. диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0002-0799-8921); Шитиков В.В. – канд. ветеринар. наук, доц., (ORCID 0000-0002-3774); Камалтинова К.Н. – асп., (ORCID 0009-0009-4544-6026)

ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет
имени П.А. Столыпина»

* tv.boiko@omgau.org

Ключевые слова: кормовые добавки, симбиотик, диарея, телята, культуральная среда *Medusomyces gisevii*, полисахарид.

Keywords: feed additives, symbiotic, diarrhea, calves, culture medium *Medusomyces gisevii*, polysaccharide.

Поступила: 25.03.2025

Принята к публикации: 06.06.2025

Опубликована онлайн: 20.06.2025



РЕФЕРАТ

Диарея телят является одним из самых распространенных заболеваний по всему миру, наносящий серьезный экономический ущерб скотоводству. Затраты от заболевания обусловлены не только краткосрочными расходами, связанными с лечением и смертностью поголовья, но и долгосрочными последствиями, такими как, снижение привесов и отрицательного влияния на общую продуктивность стада в будущем. Это подчеркивает актуальность разработки эффективных методов профилактики и терапии диареи у новорожденных телят. Целью данного исследования являлось изучение влияния на телят периода новорожденности с признаками острой диареи лабораторного образца биологически активной композиции микробного происхождения (БАКМП) на основе культуральной среды *Medusomyces gisevii* и полисахарида. Уксусные бактерии и дрожжи, входящие в состав культуральной среды БАКМП, обладают выраженными пробиотическими свойствами, способствуя восстановлению баланса кишечной микробиоты. Исследования проводились на телятах голштинской породы (n=92), с клиническими признаками острой диареи: жидкие, кашицеобразные фекалии желтого цвета, угнетение общего состояния, снижение или полное отсутствие аппетита. Телятам опытной группы (n=45) перорально задавали симбиотик в дозе 30-40 мл на голову в течение 5-7 дней, в зависимости от тяжести клинических признаков. По результатам проведенного исследования, в ходе которых опытная группа получала симбиотик, а контрольная группа – антибиотик и поливитаминные препараты, статистически значимых различий в показателях биохимического, общего анализа крови и иммунологического исследования выявлено не было. Выздоров-

ление клинически больных телят, по результатам наших наблюдений, в обеих группах наступало на 6 день лечения.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Проблема диспепсии молодняка крупного рогатого скота на каждом предприятии решается по-разному. Чаще всего путем применения антимикробных средств. О применении пробиотиков в качестве альтернативы антибиотикам изложено во многих научных трудах отечественных и зарубежных исследователей [1, 3, 4, 5, 8, 12].

Пробиотики представляют собой продукт на основе живых микроорганизмов, проявляющие антагонистическое действие в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, которые оказывают благоприятное воздействие, преимущественно за счет нормализации состава и функциональной активности микробиоты желудочно-кишечного тракта [3]. Наиболее распространенными видами бактерий, включенными в состав пробиотиков, являются *Lactobacillus spp.*, *Bacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, на основе которых разработаны и успешно используются в молочном животноводстве такие кормовые добавки, как Иммунофлор, Биоконт М, Бенефито, Лактобифид и многие другие [1, 6, 7, 8, 11].

Изучение влияния новых видов микроорганизмов, а также продуктов их метаболизма на организм больных животных является важной задачей ветеринарной фармакологии. В частности, изучение действия симбиотиков, содержащих не только живые бактерии, биологически активные вещества культуральной среды, но и пребиотики – пищевые вещества, стимулирующие рост пробиотических бактерий, например, фруктоолигосахариды (пектин), представляет определенный интерес для ветеринарных фармакологов. Цель работы – оценка сравнительной терапевтической эффективности и безопасности применения БАКМП на основе культуральной среды *Medusomyces gisevii* и полисахарида, и схемы с использованием антибактериальных препаратов в лечении острой диареи у телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Экспериментальные образцы БАКМП получали в учебно-научной лаборатории ветеринарной фармакологии и токсикологии кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства факультета ветеринарной медицины ИВМиБ ФГБОУ ВО Омский ГАУ путем культивирования *Medusomyces gisevii*, продуцируемого комбинацией уксуснокислых бактерий родов *Acetobacter*, *Komagataeibacter*, *Gluconobacter*, *Pseudomona* и дрожжей родов *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Pichia* в питательной среде [13], их метаболитов и полисахарида [2].

Исследование терапевтической эффективности БАКМП проводили в условиях сельскохозяйственного предприятия Омской области молочного направления в период с 18 апреля по 1 августа 2024 года. Объектом исследования служили телята молочного периода голштинской породы (n=92) с признаками острой диареи. Формирование экспериментальных групп проводили, используя стратифицированную рандомизацию. Критерием включения животных в опытную и контрольную группы являлось наличие клинических признаков диареи: выделение жидкого желтого кала, снижение аппетита, вялость. Телятам, включенным в опытную группу (n=45), выпаивали БАКМП индивидуально, ежедневно в дозе 30-40 мл на голову в зависимости от тяжести течения заболевания. Продолжительность применения БАКМП составляла от 5 до 7 дней, что определялось динамикой клинических изменений. В контрольной группе (n=47) лечение телят проводили согласно схемы предприятия – инъекционно антибиотики тетрациклиновой группы и поливитаминные препараты согласно инструкции по применению препаратов (табл.1). О терапевтической эффективности судили по показателю «переход на антибиотик» в опытной группе, «смена антибиотика» – в группе контроля.

Таблица 1 – Схема эксперимента по оценке терапевтической эффективности БАКМП при острой диарее у телят

Группа	n	Препараты	Курс
Контроль	4 7	1. Тетравет (д.в. окситетрациклин 20%) 5,0 мл однократно внутримышечно, повторно через 72 часа	2 инъекции на весь курс
		2. Витам (в 1000 мл содержит глюкозу — 1 г; аскорбиновую кислоту — 0,075 мг; витамин В1 — 0,015 мг; витамин В2 — 0,015 мг; витамин В3 — 0,015 мг; витамин В6 — 0,037 мг; фолиевую кислоту — 0,015 мг; никотиновую кислоту — 0,037 мг; никотинамид — 0,037 мг; биотин — 0,015 мг; парааминобензойную кислоту — 0,074 мг; холин хлорид — 60 мг; витамин D3 — 0,015 мг; натрий хлористый — 0,8 г; калий хлористый — 0,4 г; магний хлористый — 0,1 г; натрий фосфорнокислый — 0,075 г; калий фосфорнокислый — 0,06 г; натрий углекислый — 0,6 г; аргинин — 60 мг; лизин — 60 мг; лейцин — 52 мг; фенилаланин — 21,5 мг; треонин — 26 мг; триптофан — 8,6 мг; валин — 21,5 мг; тирозин — 34,6 мг; серин — 21,5 мг; глицин — 43 мг; альфа-аланин — 21,5 мг; пролин — 32 мг; аспарагиновую кислоту — 26 мг; оксипролин — 8,6 мг; глутаминовую кислоту — 60 мг; цистеин — 0,15 мг) 10,0 мл внутримышечно	1 р в день, 6-7 дней
		3. Антитокс (в 1 мл содержится: натрия тиосульфата — 0,2 г, натрия глутамата — 0,022 г, хлоркрезола — 0,001 г, натрия бисульфита — 0,0005 г) 10,0 мл подкожно	1 р в день, 6-7 дней
		4. Активитон (д.в. бутафосфан — 10%, карнитин — 4 %, никотинамид — 4%, токоферола ацетат — 3%, пиридоксин — 1%, декспантенол — 1%, фолиевую кислоту — 0,5 %, цианкобаламин — 0,01%) 10,0 мл внутримышечно или подкожно, в течение 4-5 дней	1 р в день, 4-5 дней
		5. Тетрагидровит (в 1 мл лекарственного препарата содержится в качестве действующих веществ: ретинола пальмитата (витамина А) — 25000 МЕ, холекальциферола (витамина D3) — 5000 МЕ; токоферола ацетата (витамина Е) — 25 мг; аскорбиновой кислоты (витамина С) — 50 мг) 1,5 мл внутримышечно или подкожно, 1 раз в две недели	Однократно
		Микробиовит «Енисей» (д.в. молочнокислые бактерии и дрожжевые клетки) в дозе 5 мл с молоком	В течение 1 месяца
Опыт	4 4	Микробиовит «Енисей» (д.в. молочнокислые бактерии и дрожжевые клетки) в дозе 5 мл с молоком; БАКМП в дозе 30,0-40,0 мл перорально	2 раза в день, 6-7 дней

Гематологические исследования проводили через 30 дней после лечения. Кровь брали из яремной вены в вакуумные пробирки. Гематологические исследования включали определение количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, концентрации гемоглобина, гематокрита и тромбокриты на гематологическом анализаторе Mindray BC-2008vet. Биохимические параметры крови включали определение уровня общего белка, альбуминов, глюкозы, активность печеночных ферментов (АЛТ), показателей азотистого обмена (мочевина, креатинин) и микроэлементов (кальций, фосфор). Исследования проводили на сертифицированном биохимическом анализаторе Screen Master, для проведения анализов применяли наборы реагентов, произведенные компанией Hospitex Diagnostics (Италия). При оценке активности иммунитета были изучены следующие показатели: средний цитохимический коэффициент содержания лизосомальных катионных белков (СЦК ЛКБ-тест), Т-лимфоциты, В-лимфоциты и цитотоксические Т-лимфоциты. Проводили учет реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в стимулированном (НСТст) и спонтанном (НСТсп) вариантах с расчётом коэффициента стимуляции ($КС = НСТсп / НСТст$), определяли циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК).

Все полученные результаты обрабатывали с помощью операционной системы Microsoft Windows 10. Результаты экспериментальных данных были проанализированы с применением непараметрического *U*-критерия Манна-Уитни. Результаты исследования выражены через медиану (Me), а также нижний (P_{25}) и верхний (P_{75}) квартили. Различия между группами признавались статистически значимыми при уровне p -value менее 0,05. Для обработки цифровых данных использовали программы «Statistica 13», «Microsoft Office Excel 2019» и «Microsoft PowerPoint 2019».

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

После рождения телят отделяли от коровы и размещали в телятнике, в инди-

видуальные металлические клетки с деревянным полом и инфракрасным излучателем. Способ содержания новорожденных – холодный, на соломенной подстилке. В первые сутки все телята получают молозиво от коровы. В последующие дни выпаивание сквашенного молока с добавлением микробиома «Енисей» и рыбьего жира проводят с использованием специализированной системы доставки молока (молочное такси) в 6 ч. утра. В течение первых суток жизни пупочный канатик телят дважды в день обрабатывают 5%-ным раствором йода. Купирование хвостов производят в этот же срок с применением резиновых колец. Вода у телят находится в свободном доступе.

В первые сутки жизни всем телятам на предприятии вводят антимикробный препарат Зитрекс в дозе 2 мл на голову, иммуностимулятор Биферон в дозе 3 мл, железосодержащий препарат Седимин в дозе 10 мл, витаминный препарат Витам в дозе 10 мл, сыворотку Иммуносерум в дозе 20 мл и 9-ти валентную сыворотку в дозе 30 мл на голову. Однако, случаи диареи регистрировали начиная со второго дня жизни у всех телят, с этого же периода проводили формирование экспериментальных групп.

В ходе ежедневного наблюдения за животными заметили, что поведение телят контрольной группы, находящихся на лечении по «схеме предприятия», значительно отличалось от поведения телят, принимавших симбиотик. Телята опытной группы активнее принимали корм и положительно реагировали на обслуживающий персонал. Такое поведение вызвано разным путем введения лекарственных препаратов. Приятный легкий кисло-сладкий привкус симбиотика обеспечивал хорошую его поедаемость. Стимулируя вкусовые рецепторы телят, симбиотик способствовал активации аппетита, повышению секреции слюнных и сычужных желез, лучшей переваримости молока. В то же время телята из контрольной группы проявляли пугливость и недоверие к персоналу, что связано с болевыми ощущениями от инъекций препаратов, усиливающими

их страх перед людьми.

В первые два дня после рождения у телят наблюдали выделения мекония. Начиная с третьего дня жизни у 24 голов экспериментальных групп отмечали признаки острой диареи, что составило 29% случаев из общего числа группы. При наблюдении за течением заболевания в течение месяца следует отметить волнообразный характер появления диареи с пиками на 3-ий (29%), 5-й (18 %) и 7-й (12%) дни жизни, что может являться следствием дисбактериоза кишечника у телят (рис. 1).

Существенных различий в продолжительности течения диареи между телятами контрольной и опытной групп выявлено не было – средняя продолжительность заболевания составила 6 дней. Случаи

рецидивов наблюдали в обеих экспериментальных группах: в контроле случаи рецидивов регистрировали у 23 животных (49%), в опытной группе – у 19 телят (42%). Начиная с 10-го дня наблюдений регистрировали снижение случаев диареи у телят опытной группы. Через месяц после лечения регистрировали по одному случаю диареи в каждой группе. За весь период наблюдений в контроле на повторное введение антибиотика перешли 7 телят, в опытной группе – 3 теленка, таким образом терапевтическая эффективность по показателю «переход на антибиотик» в контроле составила 85%, в опытной группе телят – 93%.

Результаты гематологического исследования телят через 30 дней после лечения представлены в таблице 1.

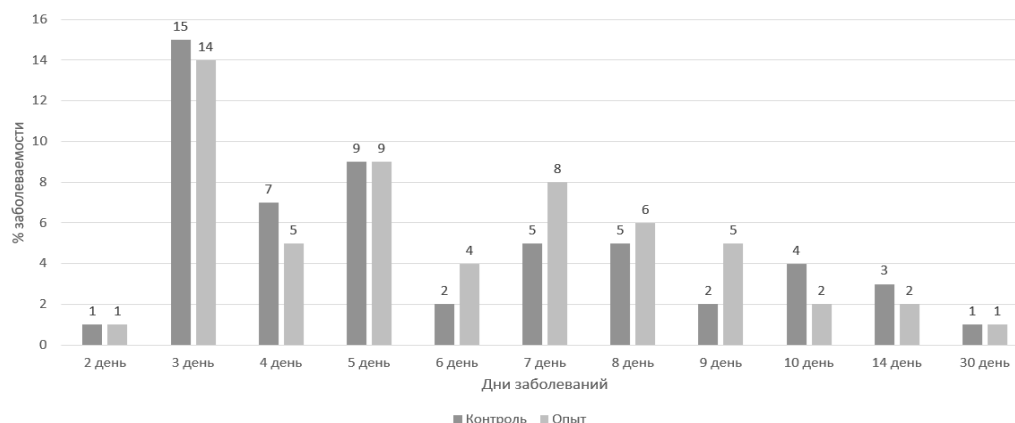


Рисунок 1 – Динамика случаев острой диареи у телят на фоне применения схемы предприятия и БАКМП

Анализ большинства морфологических показателей крови телят обеих групп не выявил статистически значимой разницы между экспериментальными группами и референсными значениями для данного вида животных. Однако, у телят контрольной и опытной групп наблюдали признаки гипохромной и микроцитарной анемии – показатели среднего содержания гемоглобина в эритроците были снижены

– на 6,9% и 3,8%, размер красных кровяных клеток – на 20,4% и 21,4% и средний объем эритроцита – на 3,9% и 3,3% соответственно, при этом степень гипохромии была менее выражена у телят опытной группы.

Результаты биохимический исследований сыворотки крови телят через месяц после лечения представлены в таблице 3.

Таблица 2 – Результаты морфологического анализа крови телят через 30 дней после лечения (Ме, P₂₅, P₇₅).

Показатели	Группа		p	Референтные значения*
	Контроль	Опыт		
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,35(7,66;8,69)	7,81 (7,04;8,86)	0,897	5-16
Лейкоциты среднего диапазона, %	5,5 (4,9;6,6)	5,8 (5,3;6,4)	0,405	4-12
Число лейкоцитов среднего диапазона, 10 ⁹ /л	0,45 (0,4; 0,5)	0,47 (0,44;0,5)	0,570	0,3-1,6
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	3,46 (2,9;4,06)	3,53 (3,2; 3,95)	0,969	1-9
Лимфоциты, %	42,5 (37,7;48,7)	44,35 (38,6; 46)	0,733	20-60,3
Гранулоциты, 10 ⁹ /л	4,16 (3,8;4,54)	4,1 (3,31;4,69)	0,820	2,3-9,1
Гранулоциты, %	50,4 (46,6;57,4)	51,2 (48,3;56,7)	0,969	30-65
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,90 (7,73;8,4)	8,38 (7,61;8,65)	0,677	5-10,1
Ширина распределения эритроцитов, % по объёму	15,9 (15,5;16,2)	15,55 (15,3;15,9)	0,449	14-19
Степень анизоцитоза эритроцитов, фл	27,85 (27,3;28,4)	27,50 (26,3;28,1)	0,472	35-56
Гемоглобин, г/л	98,5 (93;106)	105 (96;110)	0,344	90-139
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	327,5 (325;337)	338 (326;347)	0,289	300-370
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	12,1 (11,8;12,5)	12,5 (12;12,8)	0,289	13-19
Средний объем эритроцита, фл	36,5 (35,1;37,7)	36,75 (36;37,7)	0,427	38-53
Гематокрит, %	29,70 (28,9;31,5)	30,85 (29,6;31,5)	0,762	28-46
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	690 (582;753)	766 (535;1040)	0,472	120-820
Средний объем тромбоцитов, фл	6,3 (6,35;7)	6,37 (6,1;6,8)	0,472	3,8-7
Ширина распределения тромбоцитов по объёму, фл	8,6 (1,3; 9)	8,6 (8,6;9,6)	0,520	10-18
Тромбокрит, %	0,4 (0,36;0,49)	0,45 (0,35;0,6)	0,520	0,1-0,5
Коэффициент больших тромбоцитов, %	14,2 (9,8;17,9)	12,55 (9,9;15,8)	0,491	13-43

Примечание: * - источник: данные программного обеспечения гематологического анализатора Mindray BC-2008vet.

Таблица 3 – Результаты биохимического исследования сыворотки крови телят на 30 день после лечения (Ме, P₂₅, P₇₅).

Показатели	Группа		р	Референтные значения*
	Контроль	Опыт		
Общий белок г/л	60,75 (56,7;62,7)	60,8 (58,3;63,9)	0,364	56-68
Альбумины г/л	29,65 (27,6;30,7)	30,95 (29,7;31,5)	0,150	24-32
Глюкоза ммоль/л	1,58 (1,26; 4,45)	3,85 (2,73;4,74)	0,104	2,3-4,1
Билирубин общий мкмоль/л	9,1 (8,8;9,6)	9,2 (9;9,3)	0,820	0,7-14
АЛТ U/L	15,5 (15; 17)	16 (16; 17)	0,820	6,9-35
Мочевина ммоль/л	6,5 (6,5; 6,6)	6,5 (6,5; 6,6)	0,256	2,8-8,8
Креатинин мкмоль/л	107 (104; 112)	111,5 (108;117)	0,121	60-165
Кальций ммоль/л	2,25 (2,1; 2,3)	2,3 (2,2; 2,3)	0,206	1,9-2,9
Фосфор ммоль/л	2,48 (2,44;2,6)	2,58 (2,47;2,63)	0,325	1,1-2,5

Примечание: * - источник: Биохимические показатели сыворотки крови у различных видов животных: [Электронный ресурс] // Лабораторная диагностика. URL: <https://www.ld.ru/reviews/ilist-4422.html> (дата обращения: 10.03.2025).

Таблица 4 – Результаты иммунологических показателей телят на 30 день после лечения (Ме, P₂₅, P₇₅).

Показатели		Группа		р
		Контроль	Опыт	
Лейкоциты, тыс.		5,9 (4,5;8,7)	5,5 (5,3;6,3)	0,496
Лимфоциты, % (абс.)		52,5 (47;67)	57,5 (56;62)	0,150
Нейтрофилы, %		43 (36;49)	40 (36;41)	0,198
СЦК ЛКБ-тест		1,02 (0,91;1,16)	1,29 (1,08;1,34)	0,088
Т-Лф	%	22 (18;25)	22 (19;24)	1,00
	тыс./мкл	0,65 (0,6;0,74)	0,72 (0,54;0,82)	0,705
ЦТ-ЛфЦ	%	14 (12;17)	14 (12;15)	0,879
	тыс./мкл	0,48 (0,37;0,55)	0,44 (0,38;0,5)	0,650
В-Лф	%	19 (18;21)	18 (14;19)	0,033
	тыс./мкл	0,56 (0,55;0,81)	0,51 (0,45;0,65)	0,069
НСТ-тест, ед. оп. плотности,	спонт.	0,46 (0,41;0,57)	0,57 (0,54;0,6)	0,112
	а/ген	0,54 (0,48;0,63)	0,59 (0,51;0,62)	0,596
К ст. НСТ		1,16 (0,94;1,46)	1,05 (0,82;1,22)	0,427
ЦИК, у.е.		8,5 (7;16)	12,5 (10;15)	0,307

Анализ результатов биохимических исследований сыворотки крови телят обеих групп отражают нормальное течение

физиологических процессов в их организме через месяц после лечения. Статистически значимых отклонений между групп

пами и референтными значениями большинства исследуемых показателей не установлено. Следует отметить, что у телят контрольной группы регистрировали низкий уровень глюкозы в сыворотке крови, что может быть обусловлено особенностями метаболических процессов в организме на фоне применения антибиотиков.

Результаты иммунологических исследований телят через месяц после лечения представлены в таблице 4.

Достоверно значимых различий данных между группами по результатам оценки иммунологического статуса телят не регистрировали.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты исследования показали, что применение БАКМП на основе культуральной среды *Medusomyces gisevii*, продуцируемого комбинацией уксуснокислых бактерий родов *Acetobacter*, *Komagataeibacter*, *Gluconobacter*, *Pseudomonas* и дрожжей родов *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Pichia* и полисахарида, телятам с клиническими признаками диспепсии в дозе 30-40 мл, перорально, курсом 5-7 дней эффективно в лечении острой диареи у телят. Терапевтическая эффективность по показателю «переход на антибиотики» составляет 93%. Симбиотик безопасен для применения телятам и может быть рекомендован как альтернатива антибиотикам.

CLINICAL AND MORPHOFUNCTIONAL EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF FUNCTIONAL FEED ADDITIVE BASED ON *MEDUSOMYCES GISEVII* CULTURE MEDIUM AND POLYSACCHARIDE IN DIARRHEA IN CALVES

Boyko T.V * – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Diagnostics, Internal Non-Communicable Diseases, Pharmacology, Surgery and Obstetrics (ORCID 0000-0002-0799-8921); **Shitikov V.V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, (ORCID 0000-0002-3774); **Kamaltinova K.N.** – Postgraduate student, (ORCID 0009-0009-4544-6026).

Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin.

* tv.boyko@omgau.org

ABSTRACT

Calf diarrhea is one of the most common diseases worldwide, causing serious economic losses to the livestock industry. The costs of the disease are not only due to the short-term costs associated with treatment and mortality, but also the long-term consequences such as reduced weight gain and negative impact on the overall productivity of the herd in the future. This emphasizes the relevance of developing effective methods of prevention and therapy of diarrhea in newborn calves. The aim of this study was to investigate the effect of a laboratory sample of biologically active composition of microbial origin (BACMP) based on *Medusomyces gisevii* culture medium and polysaccharide on newborn calves with signs of acute diarrhea. Vinegar bacteria and yeast included in the BACMP culture medium have pronounced probiotic properties, contributing to the restoration of the balance of intestinal microbiota. Studies were conducted on Holstein calves (n=92), with clinical signs of acute diarrhea: liquid, mushy feces of yellow color; oppression of general condition; decreased or complete lack of appetite. Calves of the experimental group (n=45) were orally administered symbiotic at a dose of 30-40 ml per head for 5-7 days, depending on the severity of clinical signs. According to the results of the study, during which the experimental group received symbiotic and the control group - antibiotic and multivitamin preparations, no statistically significant differences in the indicators of biochemical, general blood analysis and immunologic study were revealed. Recovery of clinically sick calves, according to the results of our observations, in both groups came on the 6th day of treatment.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гадзаонов, Р. Х. Использование пробиотика в профилактике диспепсии у новорожденных телят / Р. Х. Гадзаонов, И.

- В. Пухаева, Д. Ю. Хекилаев // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2015. – Т. 52, № 4. – С. 168-172. – EDN UZBVAR.
2. Жарикова, Е. А. Биохимические показатели крови телят при применении биологически активной композиции микробного происхождения Симбион-д / Е. А. Жарикова, Т. В. Бойко // Современные тенденции развития ветеринарной науки и практики : Сборник материалов Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, Омск, 25–29 апреля 2022 года. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2022. – С. 338-341. – EDN FYAKUC.
3. Кривошей, Е. А. Пробиотики или пребиотики или симбиотики? [Электронный ресурс] / Е. А. Кривошей, Л. Ю. Шубенок // Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2023: сб. тез. докл. LXXVII Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 12 июля 2023 г. / под ред. С. П. Рубникова, В. А. Филонюка. – Минск, 2023. – С. 618
4. Методические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению желудочно-кишечных болезней новорожденных телят. – Казань, 2011 (одобрены методическим советом ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (протокол № 2 от 15 февраля 2011 г.) - 12 с.
5. Ноготков, М. П. Эффективность применения препарата на основе *Bacillus subtilis* для профилактики неонатальной диареи у новорожденных телят крс голштино-фризской породы / М. П. Ноготков, Г. В. Молянова // Инновационные достижения науки и техники АПК: Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, Кинель, 01–02 декабря 2020 года. – Кинель: РИО Самарского ГАУ, 2020. – С. 315-318. – EDN FPXGMT
6. Ожередова Надежда Аркадьевна, Васильев Никита Владимирович Влияние ассоциаций пробиотических бактерий на гематологические и биохимические показатели крови у телят // Научный журнал КубГАУ. 2017. №126. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-assotsiatsiy-probioticheskikh-bakteriy-na-gematologicheskie-i-biohimicheskie-pokazateli-krovi-u-tyyat> (дата обращения: 12.11.2024).
7. Патент № 2787768 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/732, А61К 35/66, А61К 36/00. Средство для профилактики и лечения диареи у животных: № 2021136257: заявл. 08.12.2021: опубл. 12.01.2023 / Е. А. Жарикова, Т. В. Бойко, Н. А. Погорелова; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина. – EDN QHEBHS.
8. Севастьянова Т.В. Структура рынка пробиотиков в России. Аграрная наука. 2023;1(10):50-56.
9. Alawneh J. I. et al. Systematic review of an intervention: the use of probiotics to improve health and productivity of calves // Preventive veterinary medicine. – 2020. – Т. 183. – С. 105147.
10. Dall Agnol, A. M., Lorenzetti, E., Leme, R. A., Ladeia, W. A., Mainardi, R. M., Bernardi, A., et al. (2021). Severe outbreak of bovine neonatal diarrhea in a dairy calf rearing unit with multifactorial etiology. *Braz. J. Microbiol.* 52, 2547–2553. doi: 10.1007/s42770-021-00565-5
11. Fentie, T., Guta, S., Mekonen, G., Temesgen, W., Melaku, A., Asefa, G., et al. (2020). Assessment of major causes of calf mortality in urban and Periurban dairy production system of Ethiopia. *Vet. Med. Int.* 2020, 3075429–3075427. doi: 10.1155/2020/3075429
12. J. Bayatkouhsar et al. Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood metabolites and fecal coliform and Lactobacilli of young dairy calves. Growth, health, rumen fermentation, and bacterial community of Holstein calves fed Lactobacillus rhamnosus GG during the preweaning stage Liyang Zhang, Xin Jiang, Xin Liu, Xuejiao Zhao, Shuai Liu, Yang Li, Yonggen Zhang
13. Huang X., Xin Y., Lu T. A systematic,

complexity-reduction approach to dissect microbiome: the kombucha tea microbiome as an example // Cold Spring Harbor Laboratory. 2022;

REFERENCES

1. Gadzaonov, R. Kh. Using a probiotic to prevent dyspepsia in newborn calves / R. Kh. Gadzaonov, I. V. Pukhaeva, D. Yu. Hekilaev // Bulletin of the Gorsk State Agrarian University. - 2015. - Vol. 52, No. 4. - Pp. 168-172. - EDN UZBVAR.
2. Zharikova, E. A. Biochemical parameters of calves' blood when using the biologically active composition of microbial origin Symbion-d / E. A. Zharikova, T. V. Boyko // Modern trends in the development of veterinary science and practice: Collection of materials from the All-Russian (national) scientific and practical conference, Omsk, April 25-29, 2022. - Omsk: Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypina, 2022. - P. 338-341. - EDN FYAKUC.
3. Krivoshey, E. A. Probiotics or prebiotics or symbiotics? [Electronic resource] / E. A. Krivoshey, L. Yu. Shubenok // Actual problems of modern medicine and pharmacy 2023: collection of papers. LXXVII Int. scientific and practical. conf. of students and young scientists, Minsk, July 12, 2023 / edited by S. P. Rubnikovich, V. A. Filonyuk. - Minsk, 2023. - P. 618
4. Methodical recommendations for the diagnosis, prevention and treatment of gastrointestinal diseases of newborn calves. - Kazan, 2011 (approved by the Methodological Council of the Federal State Institution "FCTRB-VNIVI" (protocol No. 2 dated February 15, 2011) - 12 p.
5. Nogotkov, M. P. Efficiency of using a drug based on *Bacillus subtilis* for the prevention of neonatal diarrhea in newborn calves of Holstein-Friesian cattle / M. P. Nogotkov, G. V. Molyanova // Innovative achievements of science and technology in the agro-industrial complex: Collection of scientific papers of the International scientific and practical conference, Kinel, December 01-02, 2020. - Kinel: RIO Samara SAU, 2020. - P. 315-318.
6. Ozheredova Nadezhda Arkadyevna, Vasiliev Nikita Vladimirovich The influence of probiotic bacterial associations on hematological and biochemical parameters of blood in calves // Scientific journal of KubSAU. 2017. No. 126.
7. Patent No. 2787768 C1 Russian Federation, IPC A61K 31/732, A61K 35/66, A61K 36/00. Means for the prevention and treatment of diarrhea in animals: No. 2021136257: declared. 12/08/2021: publ. 12.01.2023 / E. A. Zharikova, T. V. Boyko, N. A. Pogorelova; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin. - EDN QHEBHS.
8. Sevastyanova T.V. Structure of the probiotics market in Russia. Agrarian science. 2023; 1 (10): 50-56.
9. Alawneh J. I. et al. Systematic review of an intervention: the use of probiotics to improve health and productivity of calves // Preventive veterinary medicine. - 2020. - Vol. 183. - P. 105147.
10. Dall Agnol, A. M., Lorenzetti, E., Leme, R. A., Ladeia, W. A., Mainardi, R. M., Bernardi, A., et al. (2021). Severe outbreak of bovine neonatal diarrhea in a dairy calf rearing unit with multifactorial etiology. Braz. J. Microbiol. 52, 2547–2553.
11. Fentie, T., Guta, S., Mekonen, G., Temesgen, W., Melaku, A., Asefa, G., et al. (2020). Assessment of major causes of calf mortality in urban and Periurban dairy production system of Ethiopia. Vet. Med. Int. 2020, 3075429–3075427. doi: 10.1155/2020/3075429
12. J. Bayatkouhsar et al. Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood metabolites and fecal coliform and Lactobacilli of young dairy calves. Growth, health, rumen fermentation, and bacterial community of Holstein calves fed *Lactobacillus rhamnosus* GG during the preweaning stage Liyang Zhang, Xin Jiang, Xin Liu, Xuejiao Zhao, Shuai Liu, Yang Li, Yonggen Zhang
13. Huang X., Xin Y., Lu T. A systematic, complexity-reduction approach to dissect microbiome: the kombucha tea microbiome as an example // Cold Spring Harbor Laboratory. 2022



ПАРТНЁР™

ВЕТЕРИНАРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

8-800-200-07-12



ТЕХНОЛОГИИ НАШЕГО ВРЕМЕНИ

ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ И ЖИВОТНОВОДСТВА

- Ветеринарные УЗИ сканеры
- Рентгеновское оборудование для ветеринарии
- Товары для мечения животных (микрочипы, ридеры, бирки и др.)
- Термометры, инфракрасные пирометры
- Счетчики молока

ДЛЯ ЛАБОРАТОРИЙ

- Анализаторы молока
- Тесты на антибиотики в молоке
- Ветеринарные биохимические экспресс-анализаторы
- Ветеринарные гемоанализаторы
- Ветеринарные анализаторы мочи
- Трихинеллоскопы

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

п.Тярлево, Всероссийский Институт генетики и разведения с/х животных, Московское шоссе, 55А, 1 этаж
Тел. (812) 928-07-23

НОВОСИБИРСК

п.Краснообск, Сибирский Федеральный Научный Центр Агробиотехнологий, ИЭВСиДВ, 2, 3 этаж
Тел. (383) 375-07-23

info@partnerlab.ru • www.partnerltd.ru • www.partnerlab.ru



Редакция журнала
«Международный вестник ветеринарии»
196084, Санкт-Петербург, Черниговская 5,
СПбГУВМ.

Телефон/факс (812) 387-11-58
Mail to: farm_vestnik@mail.ru