

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

№2

International bulletin
of Veterinary Medicine



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ- 2022

www.spbguvm.ru



NARISHIGE

Инвертированные микроскопы Nikon в сочетании с микроманипуляторами Narishige и системами подогрева позволяют проводить любые микрохирургические операции с клетками просто, быстро и удобно.



Рабочие станции ЭКО с ламинарным потоком обеспечивают защиту биологических образцов при работе и снижают риск микробной контаминации. В бокс встраивается стереомикроскоп. Столешница с подогреваемой поверхностью оборудована осветителем.



Официальный
дистрибьютор
ООО «БМТ»
+7 (495) 504 15 52
info@bmtltd.ru

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ 2.2022

Редакционный совет

К.В.Племяшов – гл. ред., чл.-корр. РАН, д.в.н., проф., СПб.

Л.Ю.Карпенко-зам.гл.ред., д.б.н., проф., СПб.

А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н. проф., академик РАН, Витебск.

Редакционная коллегия

Н.Л. Андреева-д.б.н., проф., СПб.

Л.М. Белова-д.б.н., проф., СПб.

М.И. Гулюкин-акад. РАН, д.в.н., проф., Москва.

Н.В. Зеленецкий- д.в.н., проф., СПб.

С.П. Ковалев- д.в.н., проф., СПб.

А.А. Кудряшов- д.в.н., проф., СПб.

В.А. Кузьмин-д.в.н., проф., СПб.

М.Н. Макарова- д.мед.н., проф., СПб.

Б.С. Семенов-д.в.н., проф., СПб.

А.М. Смирнов- акад. РАН, д.в.н., проф., Москва.

В.В. Сочнев - член-корр. РАН, д.в.н., проф., Н.Новгород.

А.А. Стекольников – академик РАН, д.в.н., проф., СПб.

А.А. Сухинин-д.б.н., проф., СПб.

А.Н. Шиков- д.фарм.н., проф., СПб.

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

Ю.К. Ковалёнок-д.в.н., проф., Витебск, Республика Беларусь.

Kushvar Galib Mammadova-Dr., Azerbaijan.

Н.Б. Сурсембаева-д.в.н., проф., Алматы, Республика Казахстан.

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

О.Ю. Беснятых- д.б.н., доцент, Киров.

В. А. Илюха - д.б.н., доцент, Петрозаводск.

И.А. Плотников– д.б.н., профессор, Киров.

С.В. Бекетов-д.б.н., в. н. с., Самара.

В.Н. Воронин – д.б.н., профессор, СПб.

А.Н. Квочко- д.б.н., профессор, Ставрополь.

А.О. Фролов– д.б.н., з.н.с., Санкт-Петербург

О.И. Станишевская - д.б.н., профессор, СПб.

А.Е. Болгов – д.с.-х. н., профессор, Петрозаводск.

А. А. Лукин - д.б.н., профессор, СПб.

И.Ш. Шapieв - д.с.-х. н., профессор, СПб.

Н. В. Пристач - д.с.-х. н., профессор, СПб.

В. Б.Галецкий - д.с.-х. н., СПб.

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

Максимов В.И.- д.б.н., профессор, Москва

Редакционно-технический отдел

Л.А. Лукьянова- к.в.н., СПб.

О.С. Попова- к.в.н., СПб.

В.В. Крюкова- к.в.н., СПб (англ.яз)

К.А. Анисимова - к.в.н., СПб

Сдано в набор 25.06.2022

Подписано к печати 01.07.2022

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянцевая № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 12+0,25 вк. вкл.

Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

Editorial council

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

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

A. I. Yatusевич - 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. In. Zelenevskiy - 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.

K. V. Plemyashov - corr. member of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., 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. Sarsenbayeva -doctor of vet. sciences, prof., Almaty, Republic of Kazakhstan

Ilya Sachev - 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, Saint Petersburg

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

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

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

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

A. A. Lukin - doctor of biology sciences, professor, Saint-Petersburg

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 RAЕ, St. Petersburg

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

Editorial and technical Department

L. A. Lukyanova - 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)

K.A. Anisimova- PhD of Vet Med., St. Petersburg Sent to 25.06.2022

Signed for printing 01.07.2022

The format of 100 × 70 1/16 .

Glossy paper number 1. Offset printing.

Conv. Pec. liter. 12+0,25 fl. incl.

Conv. Cr. - ott. 18.2 . Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: здание Алтайского государственного аграрного университета

**НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ
ЖУРНАЛ**

Номер госрегистрации СМИ ПИ № ФС 77-28268 от 18 мая 2007 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 number of the state registration in mass media PI № FS77-28268 from may 18, 2007. Subscription index in the agency Rospechat 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" (MVV).

СОДЕРЖАНИЕ

Инфекционные болезни	<ul style="list-style-type: none"> • Получение изолята сибирской язвы, его регистрация и изучение биологических свойств в соответствии с требованиями биологической безопасности. Е.А. Артемьева, Л.А. Мельникова, А.П. Родионов, Н.И. Хаммадов 10 • Применение конъюгата на основе коллоидного золота для экспресс-диагностики бешенства в дот-иммуноанализе. Ахмадеев Р.М., Галеева А.Г., Арсланова А. Ф., Ефимова М. А., Насыров Ш. М., Кашеваров Г. С., Яруллин А. И., Сальников В.В. 16 • Влияние вакцинации иммунокомплексной вакциной из штамма “ВНИВИП” на экспрессию гена IL-6 и представленность условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике кур-несушек. Тарлавин Н.В., Веретенников В.В., Джавадов Э.Д., Козыренко О.В., Красков Д.А. 22 • Особенности эпизоотологии бешенства в Смоленской области. Целуева Н. И. 29 • Физиологический статус потомства BLV-инфицированных коров при коррекции диспепсических проявлений. Красникова Е.С., Родионов Р.В., Красников А.В. 36
Инвазионные болезни	<ul style="list-style-type: none"> • Мониторинг лейшманиоза собак в республике Армения. Слободяник Р.В., Зыкова С. С., Ванага Л.В., Щербаков О.В. 41
Фармакология, токсикология, фармация	<ul style="list-style-type: none"> • Патогенетические основы сочетанного применения лекарственных препаратов групп гепатопротекторов и фитосорбентов. Алехин Ю.Н., Понамарёв В.С., Попова О.С. 47 • Лабораторные испытания пленкообразующих веществ для изготовления глазных лекарственных пленок. М.М. Горохова, А.Н. Шулунова, Н.В. Федота, А.Н. Квочко 53 • Состояние глюконеогенной функции печени белых крыс под влиянием нанокмпозитного водного раствора фуллерена C60. Алексеев А.А., Пудовкин Н.А., Салаутин В.В., Клюкин С.Д. 58 • Оценка лечебно-профилактической эффективности левофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят в зависимости от заражающей дозы. Мазур А.Д., Скворцов В.Н., Юрин Д.В., Горбанёва А.С. 63
Зоогигиена, санитария, кормление	<ul style="list-style-type: none"> • Анализ токсикологической безопасности кормов методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Калюжная Т.В., Орлова Д.А. 69
Биохимия, анатомия, физиология	<ul style="list-style-type: none"> • Комплексный подход в диагностике новообразований молочной железы у домашних непродуктивных животных. Горинский В.И., Салаутин В.В., Пудовкин Н.А., Клюкин С.Д., Салаутина С.Е. 74 • Оценка регенерации реснитчатого эпителия бронхов при увеличении витамина А в рационе индюшки. Карпенко Л.Ю., Полистовская П.А., Ажикина О.Ю. 84 • Макроморфология глотки козы англо-нубийской породы. Щипакин М. В., Былинская Д. С., Хватов В. А. 90

	• Факторы риска возникновения и развития интраназальных новообразований у кошек. Меликова Ю.Н., Сотникова Л.Ф., Стекольников А.А.	95
	• Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови коров-матерей с генитальным микоплазмозом и рожденных от них телят. Васильев Р.М.	100
	• Особенности роста и формирования телосложения северных оленей ненецкой породы. Южаков А.А., Лайшев К.А.	104
	• Анатомические закономерности строения почек у свиней породы йоркшир в возрастном аспекте. Пидченко Р.Д., Щипакин М.В.	112
	• Влияние контролируемых изменяющихся факторов на воспроизводительную способность коров – первотелок сычევской породы. Е. А. Прищеп., Д. В. Леутина, А. С. Герасимова	117
	• Патоморфологические изменения в тканях сердца крысы при старении (по данным иммуногистхимического исследования). Чумасов Е.И., Петрова Е.С.	122
	• Динамика показателей коагуляционного гемостаза коров в разные физиологические периоды в условиях экстенсивного и интенсивного ведения животноводства. Гнездилова Л. А., Круглова Ю.С.	128
	• Идентификация полиморфизма гена ARAF1 у голштинского скота. Сафина Н.Ю., Фаттахова З.Ф., Гайнутдинова Э.Р., Ш.К. Шакиров	134
	• Определение селективных модуляторов прогестеронового рецептора в плазме крови методом ВЭЖХ-МС/МС. Николаев С.В.	140
	• Коррелятивные связи мальнутриции и нарушений редокс-гомеостаза при аллергической энтеропатии у собак с выраженным гастроинтестинальным синдромом. Ушакова Т.М., Дерезина Т.Н.	148
	• Особенности гистологической организации тканей поджелудочной железы на примере быка домашнего. Бартенева Ю.Ю., Прусаков А.В., Зеленецкий Н.В.	156
Акушерство, гинекология	• Возбудители мастита у коров и их чувствительность к антимикробным средствам. Балбуцкая А.А., Скворцов В.Н.	162
	• Комплексная система профилактики и лечения мастита у лактирующих коров. Гамаюнов В.М., Онуфриев В.А., Целуева Н.И.	169
Хирургия	• Влияние кастрации хряков на фоне иммунокоррекции на пигментный, ферментный и липидный обмен. Решетняк В.В., Стекольников А.А., Бурдейный В.В., Малахова Л.В.	173
	• Распространенность болезни мортелларо у коров с учетом лактаций (лечение и профилактика). Семенов Б.С., Кузнецова Т.Ш., А.В. Назарова, А.Д. Шушакова	182
	• Влияние бесклеточной и тромбоцитарной плазмы на заживление ожоговой раны у крыс. М.В. Свердлова, А.А. Стекольников, А.О. Минина, А.В. Бокарев	188

CONTENTS

Infectious diseases	<ul style="list-style-type: none"> • Production of anthrax isolate, its registration and study of biological properties in accordance with biological safety requirements. E.A. Artemeva, L.A. Melnikova, A.P. Rodionov, N.I. Hammadov. 10 • Application of conjugate based on colloidal gold for express diagnostics of rabies in dot immunoanalysis. Akhmadeev R.M. Galeeva A.G., Arslanova A.F., Efimova M.A., Nasyrov Sh M., Kashevarov G S., Yarullin A.I., Salnikov V.V. 16 • Influence of vaccination with the immunocomplex vaccine from the VNIVIP strain on IL-6 gene expression and representation of opportunistic microorganisms in the intestine of laying hen. Tarlavin N.V., Veretennikov V.V., Javadov E.D., Kozynenko O.V., Kraskov D.A. 22 • The spread of animal rabies on the territory of the Smolensk region. N. I. Tselueva 29 • Physiological status of the BLV-infected cows offspring under dyspeptic manifestations correction. Krasnikova E.S, Radionov R.V., Krasnikov A.V. 36
Invasive disease	<ul style="list-style-type: none"> • Monitoring of leishmaniasis of dogs in the republic of Armenia. Slobodyanik R. V., Zykova S. S., Vanaga L. V., Sherbakov O.V. 41
Pharmacology, toxicology, pharmacy	<ul style="list-style-type: none"> • Pathogenetic bases of the combined use of drugs from the groups of hepatoprotectors and phytosorbents. Alekhin Yu.N. Ponamarev V.S., Popova O.S. 47 • Laboratory testing of film-forming substances for the manufacture of ophthalmic medicinal films. M.M. Gorohova, A.N. Shulunova, N.V. Fedota, A.N. Kvochko 53 • The state of gluconeogenic liver function of white rats under the influence of a nanocomposite aqueous solution of fullerene C60. Alekseev A.A., Pudovkin N.A., Salautin V.V., Klyukin S.D. 58 • Evaluation of therapeutic and prophylactic effectiveness of levofloxacin in experimental colibacillosis of chickens with regard to infecting dose. A.D. Mazur, V.N. Skvortsov, D.V. Yurin, A.S Gorbaneva 63
Zoohygiene, Sanitation, Feeding Biochemistry, anatomy, physiology	<ul style="list-style-type: none"> • Analysis of toxicological safety of feed by atomic absorption spectroscopy. Kal-yuzhnaya T.V., Orlova D.A. 69 • A comprehensive approach to the diagnosis of breast neoplasms in domestic unproductive animals. Gorinsky V.I., Salautin V.V., Pudovkin N.A., Klyukin S.D., Salautina S.E. 74 • Assessment of regeneration of the bronchial ciliated epithelium with an increase in vitamin A content in the diet turkey. Azhikina O.Yu., Karpenko L.Yu., Polistovskaya P.A. 84 • Morphology of the throat of an anglo-nubian goat. Shchipakin M. V., Bylinskaya D. S., Khvatov V. A. 90 • The risk factors of the occurrence and development of intranasal neoplasms in cats. Yu. Melikova, L. Sotnikova, A. Stekolnikov 95 • The content of immunoglobulins in the blood serum of mother cows with genital mycoplasmosis and calves born from them. Vasiliev R.M. 100 • Features of the growth and formation of the physique of nenets reindeer from birth to puberty. A. A.Yuzhakov, K.A. Laishev 104

	• <i>Anatomical patterns of kidney structure in yorkshire pigs in the age aspect . Pidchenko R. D., Shchipakin M. V.</i>	112
	• <i>The influence of controlled changing factors on the reproductive ability of the first-calf cows of the sychevskaya breed. E.A. Prishchep, D.V. Leutina, A.S. Gerasimova</i>	117
	• <i>Pathological changes in the rat heart tissues during aging (according to immunohistochemical studies). E. Chumasov, E. Petrova</i>	122
	• <i>Dynamics of indicators of coagulation hemostasis of cows during different physiological periods under the conditions of extensive and intensive livestock management. Gnezdilova L. A., Kruglova Y.S.</i>	128
	• <i>Identification of polymorphism in APAF1 gene in holstein cattle. Natalia Yu Safina, Ziliya F Fattakhova, Elza R Gaynutdinova, Shamil K Shakrov</i>	134
	• <i>Determination of the concentration of selective progesterone receptor modulators in blood plasma BYLC–MS/MS. Nikolaev S. V.</i>	140
	• <i>Correlative relations of malnutrition and redox homeostasis disorders in allergic enteropathy in dogs with severe gi syndrome. Ushakova T.M., Derezhina T.N.</i>	148
	• <i>Features of the histological organization of pancreatic tissues on the example of a domestic bull. Barteneva Yu.Yu., Prusakov A.V., Zelenevsky N.V.</i>	156
Obstetrics, Gynecology	• <i>Pathogens of bovine mastitis and their sensitivity to antimicrobials. A.A. Balbutskaya, V.N. Skvortsov</i>	162
	• <i>Integrated system for the prevention and treatment of mastitis in lactating cows. Gama.mov V.M., Onufrieva V.A., Tselueva N.I.</i>	169
Surgery	• <i>Influence of boar castration on the background of immunocorrection on the pigment, enzyme and lipid metabolism. Reshetnyak V. V., Stekolnikov A. A., Burdeyniy V. V., Malakhova L. V.</i>	173
	• <i>Prevalence of mortellaro disease in cows, taking into account lactation (treatment and prevention). B.S. Semenov, T.S. Kuznetsova, A.V. Nazarova, A.D. Shushakova</i>	182
	• <i>Effect of cell-free and platelet plasma on burn wound healing in rats. M.V. Sverdlova, A.A. Stekolnikov, A.O. Minina, A.V. Bokarev</i>	188

К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ В.М. ГАМАЮНОВА



В июне 2022 года исполнилось 90 лет со дня рождения заслуженного ветеринарного врача Российской Федерации, ветерана труда, кандидата биологических наук, доцента Виктора Михайловича Гамаюнова ведущего научного сотрудника ФГБНУ ФНЦ ЛК.

Он родился 23 июня 1932 года в крестьянской семье в г. Новоузенск, Саратовской области. В 1952 году закончил Новоузенский зооветтехникум по специальности веттехник. В 1957 году с отличием окончил Саратовский зооветинститут и начал свою трудовую деятельность в Демидовском и Руднянском районах Смоленской области в должностях ст. ветврача МТС, главного ветврача района.

С 1966 года по 1969 г. проходил очное обучение в аспирантуре при Саратовском зооветинституте. После окончания аспирантуры в декабре 1969 года успешно защитил кандидатскую диссертацию и получил ученую степень кандидата биологических наук.

Затем в мае 1970 года направлен на работу в Смоленскую НИВС и приступил к работе зав.отделом физиологии и патологии размножения с/х животных.

В сентябре 1972 года по июль 1977 года работал начальником отдела животноводства, зам.начальника областного сельхозуправления, а в июле 1977 года перешел на преподавательскую работу в Смоленский филиал ТСХА, где преподавал теоретическую и клиническую фармакологию, токсикологию студентам ветеринарной специальности и на ФПК. В октябре 1983 года ему присвоено ученое звание доцента.

С сентября 1994 по 2018 г. Гамаюнов В.М. осуществляет научную деятельность в различных должностях Смоленской НИВС, Смоленского НИИСХ.

После реорганизации Смоленского НИИСХ путем присоединения и создания ФГБНУ ФНЦ ЛК по настоящее время работает ведущим научным сотрудником в лаборатории зоотехнологий Центра, занимаясь вопросами профилактики и лечения заболеваний молочной железы. В 2012 году награжден Почетной грамотой Российской академии сельскохозяйственных наук.

С января 2005 года по 30.06.2015г. по совместительству в Смоленской ГСХА.

Гамаюнов В.М. имеет общий 65-ти летний трудовой стаж, в том числе научно-исследовательского – 52 года. Опубликовано более 130 научных работ в т.ч. бро-шюры, методические рекомендации и руководства.

Гамаюнов В.М. владеет многими современными методиками исследований биологических материалов и кормов, имеет большой опыт в организации научно-производственных работ по анализу биогенеза и экологии Смоленской области. Проводит активную пропаганду ветеринарных знаний и достижений науки, энергично передает их молодому поколению. Эрудированный, инициативный, требовательный и ответственный специалист, наставник, охотно делится опытом. Поддерживает постоянную связь с производством, консультируя по актуальным вопросам ветеринарной практики. Принимает активное участие в общественной жизни коллектива, пользуется заслуженным авторитетом среди коллег, является ярким примером беззаветного служения выбранному пути.

Коллектив ОП Смоленский НИИСХ ФГБНУ ФНЦ ЛК



ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619:576.809.7.852

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.10

ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОЛЯТА СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ, ЕГО РЕГИСТРАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ В СООТВЕТСТВИИ С ТРЕБОВАНИЯМИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Е.А. Артемьева – к. вет. н., зав. лабораторией, Л.А. Мельникова – к. вет. н.,
вед.науч.сотр., А.П. Родионов* - млад. науч. Сотр., Н.И. Хаммадов – к. биол. н.,
вед.науч.сотр.

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

Ключевые слова: сибирская язва, изолят, штамм, биологические свойства, биологическая безопасность. **Key words:** anthrax, isolate, strain, biological properties, biological safety



РЕФЕРАТ

Государственные коллекции патогенных микроорганизмов играют важную роль в обеспечении биологической безопасности Российской Федерации. Они осуществляют хранение и комплексное изучение коллекционных штаммов микроорганизмов с помощью современных методов. Формирование коллекционного фонда происходит за счет депонирования и поступления штаммов по запросу из других коллекций, а также выделенных при проведении индикации, диагностических и мониторинговых исследованиях природных экосистем, и в ходе экспериментальной деятельности. Целью данной работы было изучить биологические свойства полученного в установленном порядке изолята возбудителя сибирской язвы, оформить на него паспорт и включить в перечень коллекционных штаммов для дальнейшего хранения. В работе использовали изолят возбудителя сибирской язвы, выделенный при диагностических исследованиях от свиней в г. Сенгилей Ульяновской области. Полученные результаты исследования показали, что биологические свойства изолята идентичны вирулентному штамму Ч-7 возбудителя сибирской язвы. В результате чего, выделенный изолят отнесен к роду *Bacillus*, виду *anthracis* и обозначен, как штамм «Сенгилей», с внесением этих данных в необходимые журналы. Проведенная работа по изучению биологических свойств изолята сибирской язвы показала строгое поэтапное соблюдение требований биологической безопасности с оформлением всех необходимых документов в соответствии с нормативно-правовыми требованиями.

ВВЕДЕНИЕ

Коллекция патогенных микроорганизмов играет важную роль в обеспечении санитарно-эпидемиологического и санитарно-эпизоотологического благополучия

Российской Федерации. Детальное изучение свойств патогенов, сохранение их в неизменном виде необходимо при мониторинге территорий в случае природно-очаговых инфекций, расследования путей

их завоза и недопущения дальнейшего распространения возбудителя; а также при разработке комплекса профилактических мероприятий, направленных против опасных инфекционных болезней человека и животных [7, 8].

По данным Международного эпизоотического бюро, по всему миру наблюдается рост выявления новых неизученных, а также уже известных инфекционных заболеваний. В результате международного сотрудничества в сфере торговли и обмена животными и их сырьем, а также стремительного развития туризма увеличивается риск заноса возбудителей инфекционных болезней из других территорий [1]. Так, одним из особо опасных инфекционных заболеваний является сибирская язва, представляющая серьезную проблему для сельского хозяйства и системы здравоохранения в целом [9]. Возбудитель сибирской язвы уникален своей способностью при попадании в неблагоприятные условия существования, образовывать споры, которые могут сохранять свою жизнеспособность более 100 лет, создавая тем самым угрозу заражения людей и животных [2, 6]. Для недопущения этого как в России, так и за рубежом разрабатываются текущие, плановые, мониторинговые и профилактические мероприятия, осуществление которых диктует необходимость разработки и создания новых высокоэффективных биопрепаратов [4, 5]. Одной из первостепенных задач выпуска качественных профилактических средств и диагностических препаратов является тщательное изучение стабильности производственных штаммов микроорганизмов и всех присущих им генетических свойств [3].

За последние годы научными учреждениями страны предложен и внедрен в производство ряд биопрепаратов для борьбы с инфекционными болезнями. Их выпуск осуществляется на основе производственных штаммов, которые биопредприятия получают из Государственных коллекций в установленном порядке согласно СП 1.3.3118-13 и СП, СП 1.2-036-95 и СП 1.2_17. Главной целью послед-

них является создание оптимальных условий хранения, исключающих морфологические изменения штаммов, изменение их биологических, серологических, токсических свойств и чувствительности к антибиотикам. [3, 8]. Формирование коллекционного фонда происходит за счет депонирования и поступления штаммов по запросу из других коллекций, а также выделенных при проведении индикации, диагностических и мониторинговых исследованиях природных экосистем, и в ходе экспериментальной деятельности согласно СП 1.3.3118-13 и СП, СП 1.2-036-95 и СП 1.2_17 [8].

Целью данной работы было изучить биологические свойства полученного в установленном порядке изолята возбудителя сибирской язвы, оформить на него паспорт и включить в перечень коллекционных штаммов для дальнейшего хранения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали изолят возбудителя сибирской язвы, выделенный при диагностических исследованиях от свиней в г. Сэнгилай Ульяновской области. Работу выполняли по «Программе по изучению биологических свойств изолята сибирской язвы», утвержденной зам. директора по научно-исследовательской работе ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Исследование проводили с постановкой контроля: положительного - вирулентный штамм Ч-7 *B. anthracis* и отрицательного - *B. cereus*. Культуральные свойства изолята сибирской язвы и контролей проверяли посевом на мясопептонный агар (МПА), мясопептонный бульон (МПБ) и бульон Хоттингера; тинкториально-морфологические свойства изучали микроскопией мазков, окрашенных по Граму и Леффлеру; подвижность - в висячей капле; протеолитические свойства - уколом в 12 %-ый желатин и обезжиренное молоко; гемолитическую активность определяли посевом изолята на 5 %-ный кровяной агар; феномен «ожерелья» - по модификационной схеме в бульоне Хоттингера с 20 % инактивированной лошадиной сыворотки и 0,5 ЕД

Таблица 1

Олигонуклеотиды, применяемые для амплификации генетического материала возбудителя сибирской язвы

Название	Нуклеотидная последовательность 5' -> 3'	ID ДНК-маркера
B anthracis F	AATCGATGAGCTAATGAACAATGACCCT	CP047131.1
B anthracis R	GGCACATGGTACTACTCAAACAAGATTCA	
pXO1 F	TCTAGAATTAGTTGCTTCATAATGGCTG	M30210.1
pXO1 R	CAATTTATTAACGATCAGAT-	
pXO2 F	TCATCCTCTTTAAGTCTTGGGTTATATT	FR872886.1
pXO2 R	TGTGATGAACTCCGACGACAAA	

пенициллина на 1 мл бульона; чувствительность к специфическим фагам - путем нанесения на поверхность 24 часовой культуры бактериофагов К-ВИЭВ и Fah-VНИИВВиМ; капсулообразование – на среде государственного контрольного института (ГКИ).

Для выявления капсулообразования *in vivo* (ускоренная биологическая проба) - заражали 12 белых мышей в дозе 0,2 мл внутрибрюшинно. Вирулентность определяли на 12 морских свинках, которым вводили суспензию изолята сибирской язвы и контролей подкожно в дозе 0,5 мл в область живота.

Принадлежность изолята к сибирской язве определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) при температуре отжига 600С с постановкой контролей, используя в этом качестве олигонуклеотиды, комплементарные по своей последовательности нуклеотидов к специфическим локусам *B anthracis*: «CDS_1868», локализованный в хромосомальной ДНК; «lef», кодирующий летальный фактор, расположенный в плазмиде «pXO1»; «pXO2-AT», расположенный в плазмиде «pXO2». Нуклеотидные последовательности используемых праймеров представлены в таблице 1.

Выделение нуклеиновых кислот производили методом магнитной сорбции с комплектом реагентов «МАГНО-сорб» вариант 100-200 («АмплиСенс» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) согласно инструкции производителя. Для ПЦР амплификации (для амплификации каждого генетического маркера,

отдельно) использовали следующий состав реакционной смеси из расчета на одну пробу: 1.5 мкл 25 mM раствора MgCl₂; 1.5 мкл 2.5 mM раствора dNTP; 1.5 мкл 10x буфера для ПЦР, содержащего краситель «EvaGreen»; 10 pM раствора прямого и обратного праймеров по 0.5 мкл; 0.5 мкл Taq-полимеразы; 5 мкл ДНК и 3.5 деионизированной воды. Для ПЦР использовались реактивы производства ЗАО «Синтол» (Москва, Россия). Конечный объем реакционной смеси составил 15 мкл.

ПЦР осуществляли на амплификаторе С1000 с оптическим блоком CFX96 (BioRad). Программа для амплификации была следующей: (I) денатурация ДНК при 95 °С в течение 2 минут; (II) 40 циклов, состоящих из: 10 секунд при 95 °С, 30 секунд при 60 °С. Детекция результата ПЦР (флуоресценции) происходит на каждом из 40 циклов второй стадии ПЦР, при 60 °С по каналу FAM.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изолят был доставлен нарочным в лабораторию коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (Казань, Россия) и передан по Акту с сопроводительным письмом с внесением в «Журнал регистрации патогенных биологических агентов, поступающих для исследования (идентификации) и хранения» - Форма учета № 512/у. Обследование целостности упаковки и содержимого контейнера показало, что они не нарушены. По результатам его вскрытия был составлен «Акт вскрытия», который вместе с письмом, подтверждающим по-

Таблица 2

Результаты изучения биологических свойств культуры изолята *B. anthracis* и контролей

Дифференциальный признак	Исследуемый изолят культуры	Эталонный штамм Ч-7	<i>B. cereus</i> (сапрофит)
Форма и положение клеток под микроскопом	Длинные палочки, цепи из обрубленных палочек	Длинные палочки, цепи из обрубленных палочек	Палочка, цепочка
Подвижность	-	-	+
Капсулообразование	+	+	-
Спорообразование	+	+	+
Окраска по Граму	+	+	+
Рост на бульоне	Бульон прозрачный, на дне рост в виде комка ваты	Бульон прозрачный, на дне рост в виде комка ваты	В виде мути, на поверхности пленка
Колонии на агаре	Сухие, морщинистые, переплетающиеся отростки в виде гривы	Сухие, морщинистые, переплетающиеся отростки в виде гривы	Воскоподобные, не прозрачные
Рост на желатине	В виде перевернутой елочка	В виде перевернутой елочка	В виде чулка
Гемолиз (на кровяном агаре)	-	-	+
Чувствительность к пенициллину (феномер «Ожерелья»)	+	+	-
Чувствительность к сибирязвенному фагу (К-ВИЭВ и Fah-VНИИВВиМ)	+	+	-
Патогенность	Белые мыши, морские свинки, кролики	Белые мыши, морские свинки, кролики	Белые мыши
ПЦР	+	+	-

лучение изолята, направили в Управление ветеринарии Ульяновской области.

Использование изолята в опыте фиксировали в «Журнале учета ПБА, находящегося в рабочей коллекции» - Форма учета № 518/у и в «Журнале учета движения ПБА (посевы) - Форма учета № 514/у-1.

В ходе исследования нами было установлено, что при посеве изолята на МПА через сутки появляются тусклые с матовой поверхностью неправильной формы затемненным центром локонообразными отростками колонии; на МПБ рост в виде рыхлого осадка с легким помутнением

без пристеночного кольца. В мазках суточной культуры окрашенных по Граму наблюдали грамположительные палочки с прямыми обрубленными концами, расположенными в виде длинных цепочек. В висячей капле культура не подвижна.

В среде ГКИ, через 16 часов после инкубации, у микроба обнаружена капсула. Способность изолята к капсулообразованию была выявлена и *in vivo* ускоренной пробой на белых мышах.

При посеве на кровяной агар в чашках Петри через 24 часа при температуре 37 °С зона гемолиза не обнаружена. Тест

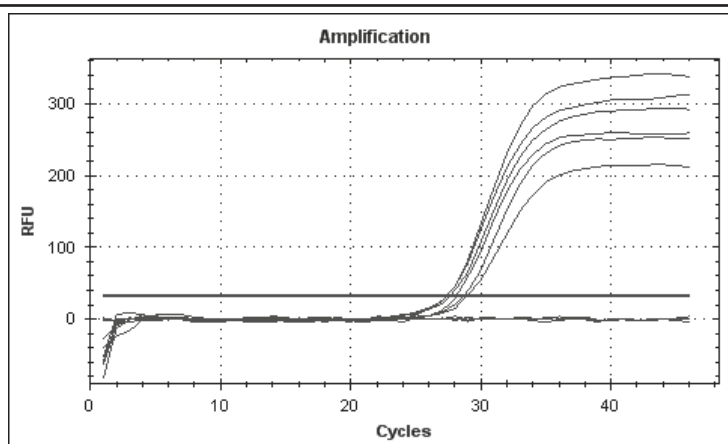


Рис. Амплификация генетического материала исследуемого образца, эталонного штамма *Bacillus anthracis* Ч-7 и *Bacillus cereus*.

«жемчужного ожерелья» показал характерный признак для возбудителя сибирской язвы: в мазках палочки располагаются в виде цепочек, шарообразной формы, напоминающие «ожерелье из жемчуга» или «бусы».

Для изучения вирулентности и капсулообразования был оформлен приказ «О проведении опыта по заражению животных изолятом, вирулентным штаммом Ч-7 *B. anthracis* и *B. cereus*» за подписью директора, составлен акт обследования бокса о его готовности для содержания подопытных животных, и схема проведения опыта и календарный план, подписанные заместителем директора по НИР. Введение культур изолята сибирской язвы животным положительного и отрицательного контроля регистрировали в «Журнале учета ПБА (животные) - Форма учета № 514/у-3».

Проведенные нами исследования показали следующее: 1) культура вирулентна - морские свинки пали на 4-6 сутки после заражения; 2) чувствительна к бактериофагам К-ВИЭВ и Fah-ВНИИВВиМ - в зоне нанесения бактериофага осталась стерильная полоса при наличии роста культуры на остальных участках среды. Учет выделенных культур при бактериологическом исследовании отмечали в «Журнале учета выделенных штаммов микроорганизмов» - Учетная форма № 513/у.

Результаты, полученные при исследовании изолята сибирской язвы с постановкой контролей представлены в таблице 2. Как видно из таблицы, полученные результаты исследования биологических свойств изолята идентичны вирулентному штамму Ч-7 возбудителя сибирской язвы.

Проведенная ПЦР амплификация анализируемых образцов показала полное совпадение (амплификация всех трёх генетических маркеров) у исследуемого образца с эталонной ДНК возбудителя сибирской язвы. Амплификация генетического материала *Bacillus cereus* была отрицательной по всем трём локусам. Результаты амплификации анализируемых образцов представлены на рисунке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вся работа по изучению биологических свойств изолята сибирской язвы проводилась в соответствии со строгим поэтапным соблюдением требований биологической безопасности и оформлением всех необходимых документов в соответствии с СП 1.3.3118-13 и СП 1.2.-036-95 и СП 1.2._17.

В результате проведенных исследований установлено, что выделенный изолят соответствует капсулообразующему штамму возбудителя сибирской язвы, отнесен к роду *Bacillus*, виду *anthracis*, обозначен как штамм «Сенгилай» и внесён в соответствующую графу

«Инвентарного журнала коллекционных ПБА» Учетная форма № 515/у и «Карту индивидуального учета коллекционного ПБА» Учетная форма № 517/у. Составлен «Акт комиссионной проверки изучения биологических свойств изолята сибирской язвы» и на основании его данных оформили паспорт на штамм.

Полученные нами результаты свидетельствуют о возможности пополнения коллекционного фонда изолятами, выделенными при диагностических и других исследованиях, которые могут быть использованы в перспективе в качестве штаммов-кандидатов для разработки средств диагностики и специфической профилактики.

PRODUCTION OF ANTHRAX ISOLATE, ITS REGISTRATION AND STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES IN ACCORDANCE WITH BIOLOGICAL SAFETY REQUIREMENTS.
E.A. Artemeva – PhD of vet. sciences, head of laboratory L.A. Melnikova – PhD of vet. sciences, leading researcher, A.P. Rodionov* - junior researcher, N.I. Hammatov – PhD of biol. sciences, leading researcher (Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety)

ABSTRACT

State collections of pathogenic microorganisms play an important role in ensuring the biological safety of Russian Federation. They carry out storage and comprehensive study of collection strains of microorganisms using modern methods. The collection fund is formed due to the deposition and receipt of strains upon request from other collections, also those isolated during the indication, diagnostic and monitoring studies of natural ecosystems, and in the course of experimental activities. The purpose of this work was to study the biological properties of the anthrax pathogen isolate obtained in the established manner, issue a passport for it and include it in the list of collection strains for further storage. An isolate of anthrax pathogen isolated during diagnostic studies from pigs in the city of Sengiley, Ulyanovsk region. The results of the study showed that the biological properties of the isolate are identical to the virulent strain “Ch

-7” of the anthrax pathogen. As a result, the isolate was assigned to the genus *Bacillus*, species *anthracis* and designated as the strain “Sengiley”, with the introduction of these data necessary journals. The work carried out to study the biological properties of anthrax isolate showed a strict compliance with biological safety requirements with the execution of all necessary documents in accordance with regulatory documents.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Андреева, Д.В. Сравнительная эффективность серологических тестов для диагностики сапа. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. М., 2003. – С. 3-17.
2. Артемьева, Е.А. Испытание «Набора определения титра антител в сыворотке крупного рогатого скота вакцинированного против сибирской язвы в РНГА» на соответствие техническим условиям / Е.А. Артемьева, Л.А. Мельникова, А.П. Родионов // Ветеринарный врач. – 2020. - №6. – С. 5-11.
3. Ветеринарные препараты. Ю.Ф. Борисович, Л.В. Кирилов; под ред. Д.Ф. Осидзе. - М.: Колос, 1981. - 447 с.
4. Иванова, С.В. Применение эритроцитарного диагностикума для оценки эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота / С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, А.П. Родионов и др. // Ветеринария. – 2019. - №6. – С. 25-28.
5. Иванова, С.В. Получение эритроцитарного сибирезвенного антигена / С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, Х.Н. Макаев и др. // Ветеринарный врач. – 2019. - №2. – С. 22-25.
6. Иванова, С.В. Мониторинг факторов потенциальной опасности возникновения вспышек сибирской язвы / С.В. Иванова, А.П. Родионов, Л.А. Мельникова // Иппология и ветеринария. – 2021. – №1. – С. 93-100.
7. Онищенко, Г.Г. Коллекционная деятельность в области использования патогенных микроорганизмов в обеспечении биологической безопасности Российской Федерации / Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырев, А.В. Осин // Инфекционные болезни:

новости, мнения, обучение. – 2016. - №1. – С. 37-43.

8.Онищенко, Г.Г. Современное состояние коллекционной деятельности связанной с использованием возбудителей инфекционных болезней I-II патогенности / Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырев, А.В. Топорков

и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2010. - №1. – С. 5-10.

9.Родионов, А.П. Эпизоотическая характеристика стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов в Республике Татарстан / А.П. Родионов, Е.А. Артемьева, Л.А. Мельникова и др. // Ветеринарный врач. – 2021. - №1. –С.50-55.

УДК: 619:616-097:57.088.1

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.16

ПРИМЕНЕНИЕ КОНЬЮГАТА НА ОСНОВЕ КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ БЕШЕНСТВА В ДОТ-ИММУНОАНАЛИЗЕ

Ахмадеев Р. М.1 – ведущий научный сотрудник (0000-0002-1732-6977), Галеева А. Г.1 – старший научный сотрудник (0000-0003-2650-6459), Арсланова А. Ф.1 – старший научный сотрудник, Ефимова М. А.1,3 – ведущий научный сотрудник (0000-0001-8786-1310), Насыров Ш. М.1 – ведущий научный сотрудник, Кашеваров Г. С.1 – старший научный сотрудник, Яруллин А. И.1 – старший научный сотрудник, Сальников В. В.2 – заведующий лабораторией (0000-0002-2367-672X) 1 – ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань; 2 – Казанский институт биохимии и биофизики (КИББ) ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань; 3 – ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана», г. Казань

Ключевые слова: бешенство, дот-иммуноанализ, иммуноферментный анализ, коллоидное золото. **Key words:** rabies, dot immunoassay, ELISA, colloidal gold



РЕФЕРАТ

Целью исследований явилась разработка прямого дот-иммуноанализа на нитроцеллюлозной мембране (НЦМ) с использованием конъюгата на основе коллоидного золота для качественного определения наличия антигена вируса бешенства в патологическом материале. В качестве исследуемых образцов использовали пробы головного мозга (ГМ) разных видов животных, явившиеся положительными при первичном исследовании методами флуоресцирующих антител: лисиц и мышей. РИФ и непрямой «сэндвич»-ИФА (иммуноферментный анализ) проводили с использованием диагностических наборов изготовленных в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». В материалах представлены результаты первичных лабораторных испытаний тест-системы для индикации рабического антигена на основе прямого дот-иммуноанализа (ДИА) 81 образца патологического материала, головного мозга разных видов животных. Показано, что ДИА обладает 100% специфичностью, а его оптические сигналы коррелируют с результатами непрямого ИФА. Предложенный метод ДИА, помимо самостоятельного применения, может также послужить базисом для конструирования тест-систем на основе иммунохимического анализа (ИХА).

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что бешенство является одной из древнейших известных человечеству нейровирусных инфекций, и на колоссальный прогресс в области изучения биологии патогена и разработки диагностических и терапевтических стратегий, специфический рабический энцефалит по-прежнему остаётся неизлечимым летальным заболеванием [7]. Одной из основных причин глобальной гиподиагностики бешенства является недостаток точных и простых в эксплуатации диагностических средств [6]. Более того, на начальных этапах манифестации клинические признаки лиссавирусной энцефалопатии зачастую неспецифичны, особенно при отсутствии анамнестических данных, что создаёт дополнительные диагностические трудности для врачей из малоэндемичных регионов.

Важное значение для своевременного проведения комплекса противоэпизоотических и профилактических мероприятий имеет время выявления вируса бешенства. Для обнаружения вируса бешенства и его антигенов в патологическом материале применяется спектр классических методик: (РИФ), (ИФА), биопроба, реакция диффузной преципитации (РДП), иммуногистохимический анализ (ИГХА), а также молекулярно-генетические методы (ОТ-ПЦР), однако большинство из них требует дорогостоящей инструментальной базы, определённой квалификации оператора либо экономических затрат на содержание лабораторных животных [4]. В связи с недостаточным материальным оснащением первичных учреждений ветеринарной службы существует необходимость их оснащения надёжными и недорогими диагностическими тестами, позволяющими облегчить проведение предварительного тестирования.

Одним из наиболее перспективных рутинных серологических методов представляется дот-иммуноанализ (ДИА) – простой и высоковоспроизводимый безинструментальный метод, позволяющий ускорить потоковую диагностику в полевых условиях. Этапы данного исследова-

ния значительно упрощены по сравнению с другими типами иммуноанализа и с учётом пробоподготовки занимают не более 3 часов.

Отечественными авторами описан способ конструирования диагностикума для обнаружения титра антирабических антител в ДИА на основе гликопротеида и наночастиц коллоидного золота [5]. Однако в повсеместную лабораторную практику подобные диагностикумы на сегодняшний день не внедрены. В этой связи особый интерес представляют разработка и оценка диагностической эффективности тест-системы на основе дот-иммуноанализа как экспрессного, чувствительного и специфического теста для посмертной диагностики бешенства у животных. Диагностические свойства подобных систем, в свою очередь, напрямую зависят от степени очистки комплектующих компонентов – контрольных антигенов и антирабических иммуноглобулинов [8, 10].

Целью данного исследования явилось получение конъюгата антирабических иммуноглобулинов на основе наночастиц коллоидного золота и определение его диагностической эффективности в дот-иммуноанализе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез наночастиц коллоидного золота. Получение наночастиц КЗ с диаметром 17 нм осуществлялось по модифицированному методу Френса. Для этого в колбе Эрленмейера вместимостью 250 мл на магнитной мешалке доводили до кипения 48 мл mQ-воды, подключали обратный холодильник и добавляли стеклянной пипеткой 0,5 мл 1% раствор золотохлористоводородной кислоты (ООО «Аурат», Россия) и кипятили в течение 2 минут. Далее в реакционную смесь стеклянной пипеткой вносили 1,5 мл 1% раствора цитрата натрия, увеличивали до максимума обороты мешалки и кипятили в течение 20 минут. Об образовании коллоида судили по приобретению раствором в течение 1-3 минут ярко-красной окраски с пурпурным оттенком, усиливающейся по мере увеличения размера ча-

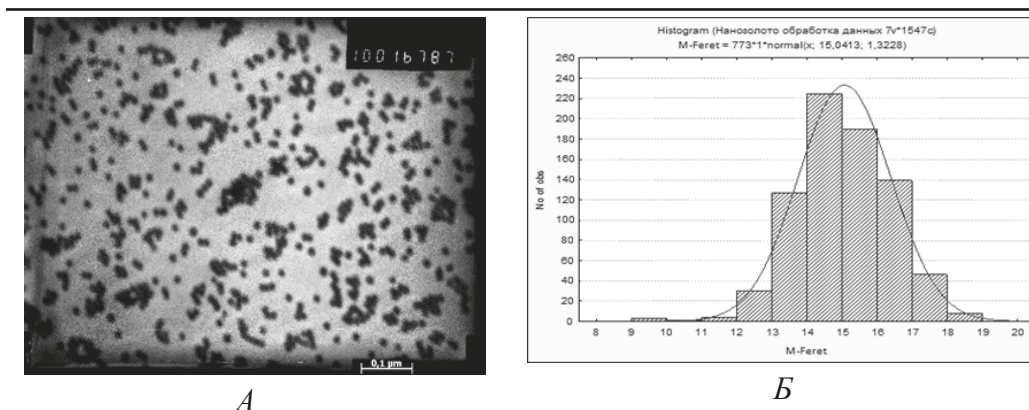


Рис. 1. Результаты электронной микроскопии: А – микрофотография наночастиц КЗ диаметром 15 нм (риска 100 нм); Б – гистограмма распределения размеров наночастиц КЗ в образце

Таблица 1
Сравнительная оценка диагностической эффективности методов ДИА и НИФА

Наименование проб	НИФА+, ДИА+	НИФА+, ДИА–
ГМ лисиц (n=6)	2/6	0/6
ГМ мышей, заражённых ВБ (n=40)	40/40	0/40
ГМ мышей, заражённых ВБА (n=10)	0/10	0/10
ГМ интактных мышей (n=20)	0/20	0/20
Контрольный положительный антиген (n=5)	5/5	0/5

Таблица 2
Соответствие уровней интенсивности окраски образцов в ДИА результатам НИФА

Интенсивность оптического сигнала в ДИА	Диапазон OD в НИФА, ОУ (M±m)	K _{сп} (M±m)
++++	1,237±0,032...0,801±0,013	2,3±0,07
+++	0,734±0,019...0,632±0,024	2,26±0,04
++	0,416±0,02...0,209±0,018	2,51±0,09
+	0,189±0,009...0,115±0,008	2,17±0,08
–	0,087±0,004...0,099±0,007	≤2,0

стиц. После прекращения кипения раствор переливали в стерильную колбу, подогретую в сушильном шкафу; коллоид хранили в темноте при +4°C.

Получение конъюгатов на основе КЗ. Конъюгацию наночастиц КЗ с овечьими антирабическими иммуноглобулинами проводили методом нековалентной (адсорбционной) конъюгации по методике Дыкмана Л. А. [2, 3]. Перед конъюга-

цией иммуноглобулины подвергали диализу против 1000-кратного избытка 10 мМ карбонатного буфера (рН = 9,0) в течение 2 часов при +4°C. Раствор 0,1 М карбоната калия добавляли к коллоидному золоту (ОП520 = 1,0) до достижения рН 9,0 и вносили в раствор иммуноглобулины с концентрацией 1,0±0,14 мг/мл. Смесь инкубировали 2 часа при комнатной температуре в условиях мягкого пе-

ремешивания, после чего в качестве стабилизатора вносили БСА до конечной концентрации 0,5%. Наночастицы КЗ с иммобилизованным белком отделяли от непрореагировавшего белка центрифугированием при 10,000 г_г в течение 15 минут; после удаления супернатанта осадок ресуспендировали в 10 мМ трис-НСI буфере (рН = 9,0), содержащем 0,1% БСА и 0,1% азида натрия. О стабильности конъюгата судили по сохранению характерной окраски и отсутствию признаков флоккуляции.

Электронная микроскопия наночастиц КЗ. Электронная микроскопия наночастиц коллоидного золота. Образцы коллоидного раствора наносили на медные сетки для электронной микроскопии с подложкой и высушивали. Съёмку наночастиц осуществляли в просвечивающем электронном микроскопе JEM-100 СХ-II на увеличении от 48000 до 100000, после чего негативы оцифровывали и измерение размеров частиц проводили, используя программу ImageJ (FII). Измеряли все частицы, индивидуально обнаруживаемые в зрительном поле (при условии, что периметр частицы просматривался по всей длине и не формировал слитный силуэт с соседней частицей). Рассчитывали размеры частиц и коэффициент сферичности; последний определяли по формуле:

$$C=4\pi(S/P^2) \quad (1),$$

где С – коэффициент сферичности;

S – площадь;

P – периметр.

Пробоподготовка. В качестве исследуемых образцов использовали пробы головного мозга (ГМ) разных видов животных, явившиеся положительными при первичном исследовании методами флуоресцирующих антител и биопробы: лисиц, отстрелянных на территории Республики Татарстан в рамках эпизоотического мониторинга бешенства в 2016-2018 гг. (n=6) и мышей (n=40), экспериментально заражённых вирусом бешенства (штамм «Овечий», ГНКИ, коллекция ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», инфекционный титр

не менее 6,12 lg LD50/мл). Из головного мозга готовилась 10% суспензия на PBS; инактивация производилась 0,025 % β-пропиолактоном («Sigma Aldrich», США). В качестве контрольных положительных образцов (n=5) использовали высокоочищенный монофракционный рабический антиген, выделенный ранее описанным способом [8].

Проведение дот-иммуноанализа. В качестве основы для проведения дот-иммуноанализа использовались нитроцеллюлозные мембраны «Immobilon-NC Membrane» («Millipore», «Merck», Германия) с диаметром пор 0,45 мкм, разделённые на квадраты площадью 1 см² и предварительно сенсibilизированные овечьими антирабическими иммуноглобулинами. Опытные образцы наносились на сухую мембрану в объёме 2-2,5 мкл на точку с дальнейшим высушиванием в течение 30 минут. Для исключения неспецифических связываний высушенные мембраны инкубировали в блокирующем растворе (5% сухого обезжиренного молока в фосфатно-буферном растворе) в течение 1 часа, отмывали 2-3 раза в фосфатно-буферном растворе с твином и высушивали при комнатной температуре (24±0,5) °С. Инкубацию мембраны в растворе конъюгата на основе КЗ (1:1600) осуществляли в течение 40 минут. По истечении срока инкубации мембрану промывали в цитратном буфере (рН = 3,7); реакцию останавливали погружением мембраны на 5 минут в раствор гипосульфита натрия, после чего дважды промывали дистиллированной водой и подсушивали на воздухе. Регистрацию результатов осуществляли визуально.

Валидация результатов. О специфичности дот-иммуноанализа судили по количеству совпадений отрицательных результатов (в процентном отношении) тестирования образцов с результатами их исследования в непрямом ИФА и РИФ. Для оценки специфичности в исследуемую панель были включены 20 образцов, в которых вирусный антиген не был выявлен ни одним из вышеперечисленных методов, а также 10 образцов, получен-

ных из головного мозга мышей, экспериментально заражённых эпизоотическим штаммом вируса болезни Ауески «Арский» (инфекционный титр $3 \lg LD_{50}/0,03$ мл).

Статистическая обработка данных. Эксперименты были проведены в 3-8 повторях. Статистическую обработку результатов производили в программе «Statistica» с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни в качестве критерия достоверности. При этом за достоверный уровень значимости принимали $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При синтезе наночастиц с установленным размером в качестве контрольного метода использовали электронную микроскопию, подтвердившую размер и гомогенность получаемых частиц (рисунок 1 А, Б). Суммарно методами ДИА, нИФА, РИФ и биопробы был протестирован 81 образец головного мозга двух видов животных, среди которых присутствовали пробы, содержащие антиген вируса бешенства (ВБ), антиген вируса болезни Ауески (ВБА) (гетерологичный антиген), а также пробы головного мозга интактных мышей. По результатам постановки реакции было установлено, что во всех образцах, оказавшихся положительными в РИФ, а также дающих оптическую плотность в нИФА с коэффициентом специфичности (Ксп) не менее 2,5, на мембране формировались красные пятна разной степени интенсивности, оцениваемые по 4-кростовой системе. В отрицательном контроле, а также в образцах, содержащих гетерологичный антиген, окраски не наблюдалось.

Следующим этапом исследования являлась оценка сопоставимости результатов ДИА с конъюгатом на основе коллоидного золота с результатами нИФА (табл. 1). Из данных таблицы 1 видно, что 100% проб демонстрировали сопоставимость между нИФА и ДИА. Так, при исследовании проб головного мозга лисиц рабического антиген был обнаружен методами РИФ, нИФА и биопробы в 2 образцах из 6, что было подтверждено в ДИА. Ранее при постановке нами ДИА с использова-

нием пероксидазного конъюгата, который, как известно, обладает меньшей чувствительностью, нами было обнаружено, что пробы, являвшиеся слабоположительными в ИФА (Ксп = 2,1), оказались негативными в ДИА [1], однако использование конъюгата на основе коллоидного золота позволяет достичь полной сопоставимости результатов (табл. 2). Данные, представленные в таблице 2, показывают, что различий в результатах ДИА и нИФА обнаружено не было. Время, затраченное на постановку ДИА, с учётом пробоподготовки составило не более 3 часов; воспроизводимость результатов достигала 100%. Таким образом, предлагаемая тест-система удовлетворяет практическим требованиям при экспрессной диагностике бешенства в условиях недостаточной оснащённости.

ВЫВОДЫ

Описанный вариант постановки ДИА на НЦМ с использованием иммуноглобулинов, полученных на мономерный гликопротеин вируса бешенства, является быстрым и простым диагностическим тестом, предназначенным для проведения в полевых условиях. Результаты показывают, что подобный формат теста способен детектировать целевой антиген в образцах головного мозга инфицированных животных, при этом образцы не требуют дополнительной очистки – допускается использование первичного тканевого гомогената. Кроме того, метод обладает достаточной чувствительностью для обнаружения антигена в 10-кратно разбавленных гомогенатах, что учитывает количественный разброс в тех случаях, когда точное дозирование тканевых образцов может быть недоступно.

Предложенный методический подход, помимо самостоятельного применения, может также послужить базисом для конструирования тест-систем на основе ИХА, позволяющих произвести диагностическую процедуру с количественным учётом в значительно меньшие сроки.

APPLICATION OF CONJUGATE BASED ON COLLOIDAL GOLD FOR EXPRESS DIAGNOSTICS OF RABIES IN DOT IM-

MUNOANALYSIS. Akhmadeev R. M.1 – leading researcher, Candidate in Veterinary sciences, Galeeva A. G.1 – senior researcher, Candidate in Veterinary sciences, Arslanova A. F.1 – Candidate in Veterinary sciences, Efimova M. A.1.3 – Doctor in Biological sciences, Nasyrov Sh. M.1 – Candidate in Veterinary sciences, Kashevarov G. S.1 – Candidate in Biological sciences, Yarullin A. I.1 – Candidate in Biological sciences, Salnikov V. V.2 – Doctor in Biological sciences. 1 – Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan. 2 – Federal Research Center «Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences», Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan. 3 – Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman, Kazan.

ABSTRACT

The aim of the research was to develop a direct dot-immunoassay on a nitrocellulose membrane (NCM) using a conjugate based on colloidal gold for the qualitative determination of the presence of rabies virus antigen in pathological material. As the test samples, we used brain samples of various animal species, which were positive during the initial study by methods of fluorescent antibodies: foxes and mice. IFA and indirect ELISA carried out using diagnostic kits manufactured at the Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety. The materials present the results of primary laboratory tests of the test system for the indication of rabies antigen based on direct dot-immunoassay (DIA) 81 samples of pathological material, the brain of various animal species. It was shown that DIA has 100% specificity, and its optical signals correlate with the results of indirect ELISA. The proposed DIA method, in addition to independent application, can also serve as a basis for the design of test systems based on immunochemical analysis.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ахмадеев, Р. М. Получение антигена вируса бешенства методом трёхфазной экстракции / Р. М. Ахмадеев, А. Г. Мухамеджанова, Н. Р. Мифтахов и др. // Ветеринарный врач. – 2020. – № 5. – С. 26-33. <https://doi.org/10.33632/1998-698X.2020-5-26-33>

2. Ахмадеев, Р. М. Применение дот-иммуноанализа для индикации рабического

антигена в патологическом материале / Р. М. Ахмадеев, А. Ф. Арсланова, Н. Р. Мифтахов, Ш. М. Насыров, М. А. Ефимова, И. И. Самерханов // Ветеринарная патология. – 2021. – № 2. – С. 21-27.

3. Богатырёв, В. А. Методы синтеза наночастиц с плазмонным резонансом / В. А. Богатырёв, Л. А. Дыкман, Н. Г. Хлебцов // Учебное пособие. – СГУ им. Н. Г. Чернышевского. – 2009. – 35 с.

4. Ефимова, М.А. Оценка пригодности выделенных антирабических иммуноглобулинов для методов лабораторной диагностики: ИФА и МФА / М. А. Ефимова, А. Г. Мухамеджанова, А. Н. Чернов и др. // Ветеринарный врач. – 2018. – № 4. – С. 3-7.

5. Загоскина, Т. Ю. Дот-иммуноанализ с использованием антител, меченных наночастицами коллоидного золота, для детекции ботулинического токсина в клиническом материале и пищевых продуктах / Т. Ю. Загоскина, Е. Л. Чапоргина, Е. Ю. Марков и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2017. – № 4. – С. 31-35.

6. Недосеков, В. В. Сравнительная оценка методов лабораторной диагностики бешенства / В. В. Недосеков // Ветеринарная патология. – 2002. – № 1. – С. 41-47.

7. Шарапова, Н. А. Выделение гликопротеида из фиксированного штамма вируса бешенства «Москва 2532» и конструирование на его основе диагностикума для дот-иммуноанализа / Н. А. Шарапова, М. Н. Киреев, Е. Г. Абрамова и др. // Бюллетень ВЦНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5 (87), 1. – С. 347-350.

8. Léchenne, M. Validation of a Rapid Rabies Diagnostic Tool for Field Surveillance in Developing Countries / M. Léchenne, K. Naïssengar, A. Lepelletier, I. O. Alfaroukh, H. Bourhy // PLoS Negl Trop Dis. – 2016. – 10(10):e0005010. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005010>.

9. Mahadevan, A. Perspectives in Diagnosis and Treatment of Rabies Viral Encephalitis / A. Mahadevan, M. S. Suja, R. S. Mani, S. K. Shankar // Insights from Pathogenesis. Neurotherapeutics. – 2016. – 13(3). – P. 477-92. <https://doi.org/10.1007/s13311-016-0452-4>.

10. Nadyrova, A. I. Obtaining rabies virus purified antigen / A. I. Nadyrova, M. A. Efimova, A. G. Mukhamedzhanova et al. // Asian Journal of Pharmaceutics. – 2018. – № 12 (4). – P. 1299-1303.

УДК 636.5.034:615.371

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.22

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНАЦИИ ИММУНОКОМПЛЕКСНОЙ ВАКЦИНОЙ ИЗ ШТАММА “ВНИВИП” НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА IL-6 И ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В КИШЕЧНИКЕ КУР-НЕСУШЕК.

Тарлавин Н.В. – ассистент кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Веретенников В.В. – ассистент кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Джавадов Э.Д. – д.в.н., профессор кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Козыренко О.В. – д.в.н., профессор кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Красков Д.А. – студент 4 курса факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Ключевые слова: птицеводство, эпизоотология, экспрессия генов, вакцины нового поколения, микробиом под влиянием вакцинации. **Key words:** poultry farming, epizootology, gene expression, new generation vaccines, microbiome influenced by vaccination.

РЕФЕРАТ

Иммунокомплексная вакцина против инфекционной бурсальной болезни из штамма «ВНИВИП» обладает сильными иммуногенными свойствами, в том числе вызывает активную экспрессию генов синтеза цитокина IL-6 в тканях фабрициевой сумки и слепых отростков кишечника. Данное явление стимулирует местный неспецифический иммунный ответ, в результате чего происходит сокращение представленности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике цыплят. В результате проведенных исследований было установлено, что относительная экспрессия в тканях слепых отростков кишечника цыплят кросса Ломан Уайт достигала 2,7-кратного превышения над уровнем контроля, а относительная экспрессия в тканях фабрициевой сумки – 15,6-кратного превышения над уровнем контроля. Относительное содержание бактерий группы кишечной палочки, как санитарно-показательных микроорганизмов под влиянием вакцины сократилось в 4 раза (с 0,253% в контрольной группе до 0,064% в вакцинированной группе). Разнообразие стафилококков под влиянием вакцины также сокращалось, и в вакцинированной группе обнаруживались исключительно неидентифицируемые представители рода *Staphylococcus*.

ВВЕДЕНИЕ

Птицеводство на территории Российской Федерации является одной из наиболее высокоразвитых и социально-значимых отраслей сельского хозяйства, так как обеспечивает население большим количеством дешевой и питательной животноводческой продукции. Специфика российского птицеводства состоит в одновременном содержании на территории птицефабрик большого птицепоголовья, что превращает птицефабрики в потенци-

альные эпизоотические очаги вирусных и бактериальных болезней. Наиболее опасными из них являются иммунодепрессивные болезни (болезнь Марека, инфекционная бурсальная болезнь и инфекционная анемия цыплят). Наибольший ущерб вызывает именно инфекционная бурсальная болезнь (болезнь Гамборо, ИББ).

Вакцинация является наиболее эффективным способом предотвращения ИББ в условиях промышленной птицефабрики. На территории Российской Федерации

болезнь Гамборо профилактируется главным образом за счет использования вакцинации живыми вакцинами, причем цыплята, полученные от вакцинированных матерей, через желточный мешок получают материнские антитела, которые обеспечивают защиту в течение первых двух недель после вылупления. При этом у потомства различных вакцинированных популяций могут быть разные титры антител к вирусу ИББ. При совместном выращивании это может привести к различному уровню материнских антител в потомстве и разделить стадо на особей с низкой или высокой восприимчивостью к полевым штаммам вируса ИББ.

Иммунокомплексная вакцина нового поколения обеспечивает доступный и простой метод защиты птицы от инфекционной бурсальной болезни. Иммунокомплексные вакцины считается возможным применять *in ovo* на 18 день инкубации, либо подкожно в возрасте 1 дня. Механизм работы иммунокомплексной вакцины заключается в отложенной репликации вакцинного вируса в клетках фабрициевой сумки цыпленка, что позволяет дожидаться снижения уровня материнских антител и успеть колонизировать клетки фабрициевой сумки раньше, чем это успеет сделать высоковирулентный полевой штамм болезни Гамборо. Отложенная репликация вакцинного вируса достигается за счет взаимодействия иммунного комплекса с фолликулярными дендритными клетками. Когда связь между вируснейтрализующим иммуноглобулином и вакцинным вирусом ослабевает, вирус высвобождается в кровяное русло и получает возможность колонизировать клетки фабрициевой сумки, тем самым формируя иммунный ответ. Также вакцинный вирус распространяется по прочим органам птицы, участвующим в формировании иммунного ответа: селезенке, тимусу, миндалевидной железе. По такому принципу на базе Научного консультативно-диагностического центра по птицеводству ФГБОУ ВО «СПбГУВМ» была разработана иммунокомплексная вакцина против инфекционной бурсальной болез-

ни из штамма “ВНИВИП”, пригодная к введению 1-суточному цыпленку [1].

В настоящее время известно, что организм реагирует на воздействия внешней среды посредством активации процессов экспрессии генов в клетках и тканях различных органов, в ходе чего образуется матричная РНК, комплементарная ДНК экспрессирующихся генов. Регулирование экспрессии генов позволяет клеткам контролировать свою собственную структуру и функцию и является основой клеточной дифференцировки, морфогенеза и адаптации. Изучение экспрессии генов иммунитета сельскохозяйственных птиц позволяет в реальном времени отслеживать процесс формирования белков, которым организм отвечает на воздействия со стороны окружающей среды [2].

Цитокины, выработка которых кодируется геном IL-6, являются важными медиаторами процессов воспаления и регуляторами иммунных процессов, протекающих в инфицированном вирусом организме. Их основная функция – управление функциональной активностью клеток иммунной системы. Однако мало что известно о роли данных цитокинов в патогенезе и иммунных реакциях, вызванных вирусом инфекционной бурсальной болезни. Исследования на схожую тематику проводились Liu H с соавторами [4], которые пришли к выводу, что инфицирование организма белых леггорнов вирусом инфекционной бурсальной болезни приводит к 30-кратному увеличению экспрессии интерлейкинов в опытной группе по отношению к контролю. Активнее всего экспрессировался IL-10, поскольку данный цитокин является мощным стимулятором эффективности работы NK-клеток (естественных киллеров) и его активность сравнима по интенсивности с экспрессией гена IFN- γ , отвечающего за синтез интерферона.

Среди микроорганизмов, населяющих слепые отростки кишечника птицы, традиционно выявляются бактерии, обладающие патогенным и условно-патогенным действием на организм птицы. К таким бактериям относятся микроорганизмы

семейств *Campylobacteraceae*, *Helicobacteraceae*, *Pasteurellaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Fusobacteriaceae*. Микроорганизмы данных семейств вызывают снижение продуктивности птицы, а также при падении общей резистентности организма птицы способны накапливаться и вызывать на предприятии вспышку инфекции бактериальной этиологии, ведущей к большим экономическим потерям [3].

Данная работа позволяет изучить характер экспрессии гена IL-6, возникающей в ответ на введение в организм кур-несушек вируса инфекционной бурсальной болезни штамма «ВНИВИП», входящего в состав экспериментальной иммунокомплексной вакцины, а также влияние данной экспрессии и вакцинации на содержание и представленность в кишечнике бактерий группы кишечной палочки и стафилококков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ уровня относительной экспрессии генов иммунитета проводили методом ПЦР в реальном времени (qPCR) на базе молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ». Материалом служили куры-несушки породы Ломан Уайт, Содержание и вакцинация птиц проводились на базе вивариев ФГБОУ ВО «СПбГУВМ». Образцы тканей фабричной сумки были получены на 35 сутки жизни несушек. Общая РНК из образцов была выделена с использованием набора Aurum™ Total RNA Mini Kit (Bio-Rad) в соответствии с инструкциями производителя. Ткань разрезали на мелкие кусочки (<5 мм длиной) и измельчали до тонкого порошка с помощью пестика и ступки, содержащей жидкий азот. Ткани измель-

чались и гомогенизировались с добавлением раствора PureZOL™.

С использованием набора iScript™ обратной транскрипции Supermix (Bio-Rad) проводили реакцию обратной транскрипции для получения кДНК с использованием матрицы РНК. Программа термоциклера: подготовка в течение 5 мин при 25°C, обратная транскрипция в течение 20 мин при 46°C, инактивация в течение 1 мин при 95°C.

Реакцию амплификации с генными праймерами проводили с использованием набора SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad) в соответствии с протоколом производителя.

Расчет относительной экспрессии был произведен при помощи метода 2^{-ΔΔCt}. В качестве референсного гена был выбран ген белка b-Actin. Список праймеров приведен в таблице 1.

Метагеномные исследования выполняли методом NGS-секвенирования, путём анализа гена прокариотической 16S-рибосомальной РНК (16S рРНК). Тотальную ДНК из исследуемых образцов выделяли с использованием набора «Genomic DNA Purification Kit» («Fermentas, Inc.», Литва) следуя рекомендациям производителя. Концентрацию полученной ДНК определяли с помощью флуориметра Qubit («Invitrogen, Inc.», США) с использованием наборов «Quant-iT dsDNA Broad-Range Assay Kit» («Invitrogen, Inc.», США), согласно рекомендациям производителя. Амплификацию для последующего проведения NGS-секвенирования проводили с использованием ДНК-амплификатора Verity («Life Technologies, Inc.», США) с помощью зубактериальных праймеров (IDT), 343F (5'-CTCCTACGGRRSGCAGCAG-3') и 806R

Таблица 1

Список праймеров для исследования генов

Ген	Наименование белка	Нуклеотидная последовательность праймера
<i>IL-6</i>	Цитокин	F: AGGACGAGATGTGCAAGAAGTTC R: TTGGGCAGGTTGAGGTTGTT
<i>b-Actin</i>	Бета-актин	F: ATTGTCCACCGCAAATGCTTC R: AAATAAAGCCATGCCAATCTCGTC

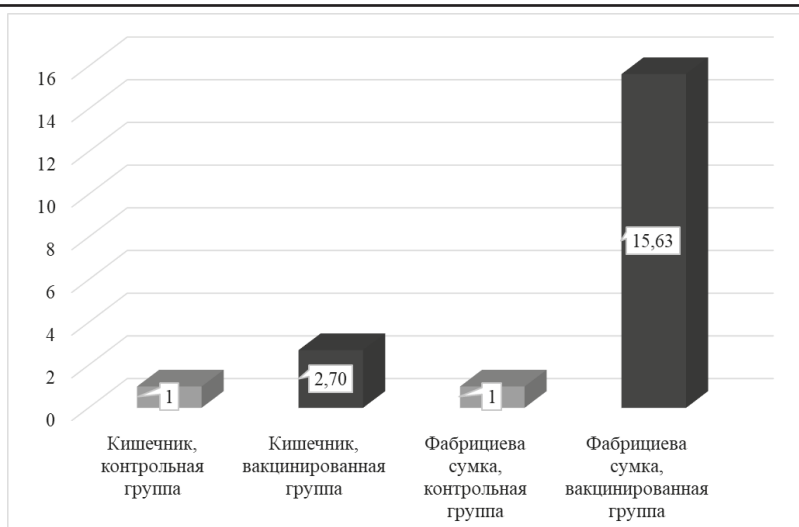


Рис. 1. Экспрессия гена IL-6 в тканях фабришевой сумки и слепых отростков кишечника цыплят кросса Ломан Уайт ($p=0,3$) на 35 сутки после введения иммунокомплексной вакцины.

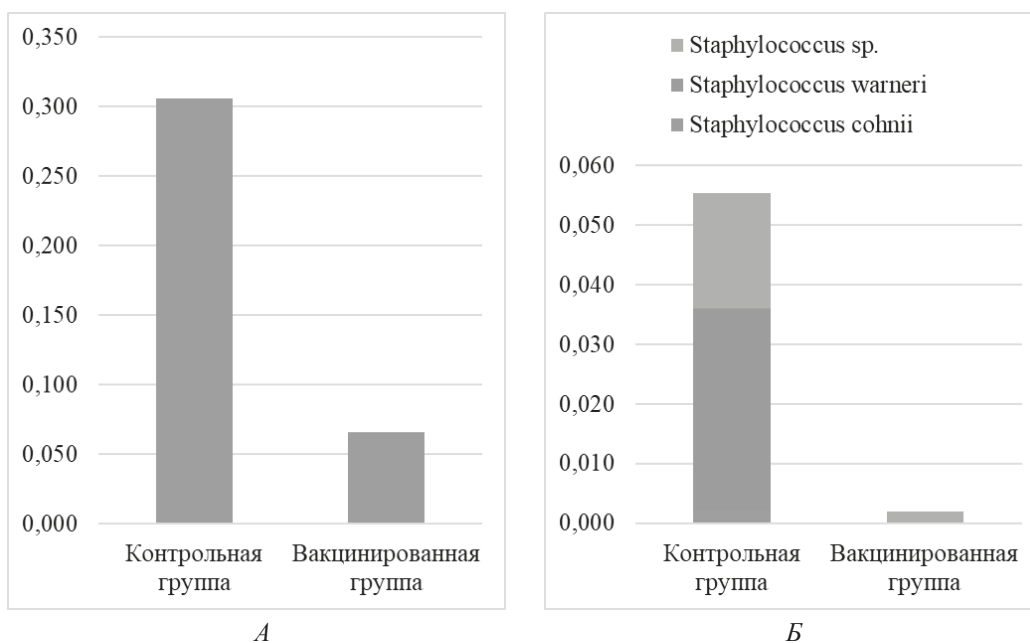


Рис. 2. Относительное содержание бактерий группы кишечной палочки (А) и различных видов стафилококков (Б) в слепых отростках желудочно-кишечного тракта цыплят кросса Ломан Уайт, ($p=0,3$) на 35 сутки после введения иммунокомплексной вакцины.

(5'- GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'), фланкирующих участок V1V3 гена 16S рРНК [36]. Метагеномное секвенирование осуществляли на геномном секвенаторе MiSeq («Illumina, Inc.», США) с набором MiSeq Reagent Kit v3 («Illumina, Inc.», США). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2 x 300 нт. Химерные последовательности были исключены из анализа с помощью программы «USEARCH 7.0» (<http://drive5.com/usearch/>). Обработка полученных ридов 2 x 300 нт происходила с помощью биоинформатической платформы «CLC Bio GW 7.0» («Qiagen», Нидерланды) и включала в себя перекрывание, фильтрацию по качеству (QV>15), триммирование праймеров. Определение таксономической принадлежности микроорганизмов до рода проводили с применением программы «16S Metagenomics» («Illumina, Inc.», США). Классификация основана на базе данных Greengenes (<http://greengenes.lbl.gov/>). Результатом этого рабочего процесса является классификация операций чтения на нескольких таксономических уровнях: царство, тип, класс, порядок, семейство, род и виды.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о различиях в уровнях экспрессии гена IL-6 в тканях фабрициевой сумки и слепых отростков кишечника кур-несушек под влиянием вакцинации иммунокомплексной вакциной (рисунок 1).

Из рисунка №1 видно, что экспрессия гена IL-6 в клетках фабрициевой сумки вакцинированной группы существенно превышает данный показатель в клетках стенки кишечника. Данное явление связывается в первую очередь с тем, что клетки фабрициевой сумки являются таргетными для живого вируса инфекционной бурсальной болезни.

Данные изменения говорят об интенсивных иммунных процессах, протекающих в иммунных клетках. Ген IL-6 продуцируется временно в ответ на инфицирование тканей организма и строго контро-

лируется транскрипционными и пост-транскрипционными механизмами, во избежание возникновения нерегулируемого непрерывного синтеза IL-6. Также данный интерлейкин является пирогенным цитокином и свидетельствует о повышении температуры, которое сопровождается инфекционным процессом [6]. Повышение экспрессии данного гена в вакцинированной группе по сравнению с контрольной свидетельствует о действии вакцины на клетки и ткани фабрициевой сумки и кишечника цыплят.

Экспрессия гена синтеза IL-6 превышает данный показатель в контрольной группе цыплят кросса Ломан Уайт в 2,7 раза, что говорит об интенсивной работе данного цитокина в тканях кишечника. Данная работа сказывается на содержании условно-патогенных микроорганизмов, таких как бактерии группы кишечной палочки (рис. 2) и представители рода *Staphylococcus* (рис. 3).

Из рисунка 2А видно, что под влиянием вакцинации иммунокомплексной вакциной из штамма «ВНИВИП» произошло существенное снижение содержания бактерий группы кишечной палочки. Так, под влиянием вакцинации данной вакциной количество вышеупомянутых бактерий в кишечнике цыплят кросса Ломан Уайт сократилось с 0,3 до 0,06%.

Представленность обнаруженных методом NGS-секвенирования видов стафилококков также резко сокращалась. Так, в кишечнике птиц контрольной группы обнаруживались такие представители рода *Staphylococcus*, как *Staphylococcus warneri* и *Staphylococcus cohnii*, а также прочими неидентифицируемыми стафилококками, обозначенными на рисунке 2Б как *Staphylococcus sp.* Бактерии *Staphylococcus warneri* и *Staphylococcus cohnii*, выявляются при процессах снижения иммунитета и являются участниками патогенных процессов в организме птицы. Также есть данные о способности *Staphylococcus cohnii* к развитию антибиотикорезистентности.

ВЫВОДЫ

Был проведен опыт по исследованию влияния вакцинации на экспрессию гена

IL-6 в тканях слепых отростков кишечника и тканях Фабрициевой сумки цыплят кросса Ломан-Уайт, а также на содержание и представленность условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике цыплят. Был сделан вывод, что вакцина обладает способностью вызывать сильный иммунный ответ со стороны организма кур-несушек, который проявляется в том числе в сильной экспрессии иммунных генов и ведет к сокращению представленности условно-патогенной микрофлоры в кишечнике птиц.

INFLUENCE OF VACCINATION WITH THE IMMUNOCOMPLEX VACCINE FROM THE VNIVIP STRAIN ON IL-6 GENE EXPRESSION AND REPRESENTATION OF OPPORTUNISTICAL MICROORGANISMS IN THE INTESTINE OF LAYING HEN.

Tarlavin N.V. - Assistant of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana FGBOU VO SPbGUVM. **Veretennikov V.V.** - Assistant of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana FGBOU VO SPbGUVM. **Javadov E.D.** - Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana FGBOU VO SPbGUVM. **Kozyrenko O.V.** - Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana FGBOU VO SPbGUVM. **Kraskov D.A.** - 4th year student of the Faculty of Veterinary Medicine, St. Petersburg State University of Medicine.

ABSTRACT

The immunocomplex vaccine against infectious bursal disease from the VNIVIP strain has strong immunogenic properties, including active expression of the IL-6 cytokine synthesis genes in the tissues of the bursa of Fabricius and cecum. This phenomenon stimulates a local non-specific immune response, resulting in a reduction in the representation of pathogenic and opportunistic microorganisms in the intestines of chickens. As a result of the studies, it was found that the relative expression in the tissues of the caecum of the intestines of chickens of the Loman White cross reached a 2.7-fold ex-

cess over the control level, and the relative expression in the tissues of the Fabricius bag - 15.6-fold excess over the control level. The relative content of bacteria of the Escherichia coli group, as sanitary indicative microorganisms, decreased by 4 times under the influence of the vaccine (from 0.253% in the control group to 0.064% in the vaccinated group). The variety of staphylococci under the influence of the vaccine was also reduced, and only unidentifiable representatives of the genus Staphylococcus were found in the vaccinated group.

Исследование проведено в рамках гранта №МД-2579.2021.5 при поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых и по государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Джавадов, Э. Д. Особенности применения иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни / Э. Д. Джавадов, Н. В. Тарлавин, В. В. Веретеников // Мировое и российское птицеводство: состояние, динамика развития, инновационные перспективы: Материалы XX Международной конференции, Сергей Посад, 08–10 октября 2020 года / Российское отделение Всемирной научной ассоциации по птицеводству, НП "Научный центр по птицеводству". – Сергей Посад: Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, 2020. – С. 607-608.
2. Методические рекомендации по использованию современных биотехнологий для оценки экспрессии генов, связанных с продуктивностью и устойчивостью птицы к неблагоприятным факторам / И. И. Кошиш, М. Н. Романов, Г. Ю. Лаптев [и др.]. – Москва : Сельскохозяйственные технологии, 2019. – 112 с. – ISBN 9785604364277.
3. Эпизоотологический мониторинг микробного содержимого кишечника птицы в условиях промышленной птицефабрики / Г. Ю. Лаптев, Л. А. Ильина, Н. В. Тарла-

- вин [и др.] // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2020. – № 1-2. – С. 90-91. – EDN KCBJYZ.
4. Farhanah MI, Yasmin AR, Khanh NP, Yeap SK, Hair-Bejo M, Omar AR. Bursal immunopathology responses of specific-pathogen-free chickens and red jungle fowl infected with very virulent infectious bursal disease virus. *Arch Virol.* 2018 Aug;163(8):2085-2097. doi: 10.1007/s00705-018-3841-7. Epub 2018 Apr 6. PMID: 29626271.
5. Liu H, Zhang M, Han H, Yuan J, Li Z. Comparison of the expression of cytokine genes in the bursal tissues of the chickens following challenge with infectious bursal disease viruses of varying virulence. *Virol J.* 2010;7:364. Published 2010 Dec 8. doi:10.1186/1743-422X-7-364
6. Luo C, Liu J, Qi W, Ren X, Lu R, Liao M, Ning Z. Dynamic analysis of expression of chemokine and cytokine gene responses to H5N1 and H9N2 avian influenza viruses in DF-1 cells. *Microbiol Immunol.* 2018 May;62(5):327-340. doi: 10.1111/1348-0421.12588. Epub 2018 May 4. PMID: 29577370.
7. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014 Sep 4;6(10):a016295. doi: 10.1101/cshperspect.a016295. PMID: 25190079; PMCID: PMC4176007.

УДК: 619:616.988.21

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.29

ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗООТОЛОГИИ БЕШЕНСТВА В СМОЛЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Целуева Н. И. – ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр лубяных культур»

Ключевые слова: бешенство, эпизоотическая ситуация, ограничительные мероприятия, неблагополучные пункты, профилактика, плотоядные животные. **Keywords:** rabies, epizootological situation, restrictive measures, unfavorable points, prevention, carnivorous animals.



РЕФЕРАТ

В статье дан анализ возникновения и распространения заболевания животных бешенством на территории Смоленской области за 2017-2021 годы. При этом изучены: частота заболеваемости среди восприимчивых видов сельскохозяйственных животных, домашних плотоядных и дикой фауны, географическое расположение неблагополучных территорий, на которых за указанный период активировались природные очаги бешенства и результаты работы по проведению профилактических мероприятий и ликвидации заболевания животных бешенством.

Начиная, с 80-х годов прошлого столетия на территории области стала распространяться эпизоотия бешенства природного типа, это также говорит о наличии резервуара возбудителя инфекции, формирования и стойкого сохранения природных очагов бешенства, поддерживаемых не только лисицами, но и енотовидными собаками, волками.

Как показывает анализ эпизоотической ситуации заболевания животных бешенством, что основным источником и распространителем бешенства в области являются представители семейства псовых, которые долгие годы поддерживают устойчивые очаги силватического бешенства. На их долю среди заболевших диких животных за пять лет (2017-2021 г.г.) приходится 48,5%% случаев бешенства, но в тоже время за анализируемый период бешенство домашних животных увеличивается и составляет 50,2%, что отражено в диаграмме №1.

Бешенство животных распространилось и прочно укоренилось в Смоленской области, что фактически превратило в обширную, единую природноочаговую территорию.

ВВЕДЕНИЕ

Бешенство известно еще с глубокой древности, оно входит в пятерку зоонозов, наносящих наибольший экономический ущерб, и является серьезной угрозой для жизни человека и животных[2].

В связи с тем, что бешенство регистрируется в большом количестве стран мира, в результате там наблюдается напряженная эпидемическая и эпизоотическая ситуация. Мировое сообщество уделяет большое внимание этому заболеванию[4].

Бешенство вызывает больше смертей в мире, чем любое другое инфекционное заболевание, и особенно среди детей в развивающихся странах. В странах, где люди все еще умирают от бешенства, собаки и дикие животные, в том числе лисы и енотовидные собаки, являются основными носителями вируса [1].

В связи с недостатками в проведении общей и специфической профилактики в Российской Федерации отмечается напряженная эпизоотическая обстановка по

бешенству животных на протяжении последних десятилетий. Эпизоотии бешенства имеют тенденцию к увеличению охваченных заболеванием территорий. Как правило, эпизоотии имеют смешанный тип и природно-очаговый характер с вовлечением в эпизоотическую цепь безнадзорных животных [3].

Увеличение заболеваемости бешенством в России наблюдалось в среднем через 3,5 года. Подъемы и спады болезни чередовались через 2-7 лет. Причина колебания эпизоотического процесса зависит от регулирования численности диких плотоядных и проведения иммунизации среди сельскохозяйственных животных, собак и кошек, а также в дикой фауне. За десятилетние наблюдения выявленные закономерности эпизоотического процесса во многом подтвердились [5,6].

В современных условиях при новых формах собственности и интенсификации сельскохозяйственного производства произошли существенные изменения относительно современных видовых, экологических и региональных особенностей проявления эпизоотического процесса бешенства в России и в том числе на территории Смоленской области [7,8].

Целью исследований было изучение современной эпизоотологической обстановки по бешенству животных, его распространению на территории Смоленской области и мер борьбы и профилактики этого зоонозного заболевания за последние годы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали собственные исследования по заболеванию бешенством животных по результатам мониторинга за многие годы. Анализ и прогноз эпизоотического процесса и статистическую отчетность филиала «Смоленская областная ветлаборатория» ОГБУВ «Госветслужба» и Главного управления ветеринарии, за период с 2017 по 2021г.г. Анализ эпизоотической ситуации проводился с учетом современного административно-территориального деления Смоленской области и видов восприимчивых животных к заболеванию бешенством.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Архивные данные указывают на то, что бешенство животных в Смоленской области официально начали регистрировать в 1949 году. С того периода по настоящее время, как показывает анализ имеющейся информации на территории области, происходили принципиально важные изменения эпизоотического процесса данного зооноза.

Результаты анализа эпизоотической ситуации заболевания животных бешенством, говорит о том, что основным источником и распространителем бешенства в области являются представители диких плотоядных, в основном это лисы и енотовидные собаки, которые долгие годы поддерживают устойчивые очаги бешенства природного типа.

Анализ данных таблицы показывает, начиная с 2000 г. на территории области отмечается рост заболевания бешенством диких и домашних плотоядных, который сохраняется и в настоящее время. Но в последние годы заболевание бешенством животных из дикой природы начинает смещаться на территории городов и населенных пунктов, что может вызвать риск распространения болезни среди населения. Заболевание диких по отношению к домашним животным за последнюю пятилетку снижается, что еще раз подтверждается данными диаграммы №1.

Анализ данных указывает на то, что за пятилетний период удельный вес заболевания бешенством домашних животных, а в основной массе это кошки и собаки, составил 50,2%, что превышает показатель диких плотоядных (лисы, волки, енотовидные собаки и другие виды), удельный вес которых - 48,5%.

Важными предпосылками роста заболеваемости собак и кошек является неконтролируемый рост поголовья домашних животных особенно среди безнадзорных, а также не соблюдения правил их содержания. Таким образом, прослеживается тенденция к замене очагов природного и антропоургического типа бешенства на смешанный.

Природная эпизоотии бешенства в

Таблица
Динамика выявления случаев бешенства по видам животных в Смоленской области с 1959 по 2021 годы.

Годы	Собаки	Кошки	Крупный ро- гатый скот	Другие сель- скохозяйствен- ные животные	Волки	Лисы	Енотовидные собаки	Другие дикие звери	Всего		
1959- 1968	346	23	34	14	2	6	1	1	427		
1969-1974	3	1	1	0	1	0	0	0	6		
1975-1980	60	33	9	7	6	52	6	4	177		
1981-1991	9	4	19	20	0	21	15	8	299		
1992-1995	1	0	0	0	1	5	1	0	8		
1996-1998	24	10	4	1	2	75	3	3	122		
1999	1	0	0	0	0	3	0	0	4		
2000-2005	57	11	5	1	3	19	4	33	4	308	
2006-2011	70	44	17	3	2	31	9	118	1	574	
2012-2016	62	37	3	4	2	11	9	69	18	314	
2017-2021	142	136	2	5	7	15	5	57	50	554	
ИТОГО	775	299	94	55	3	11	6	42	303	89	2793

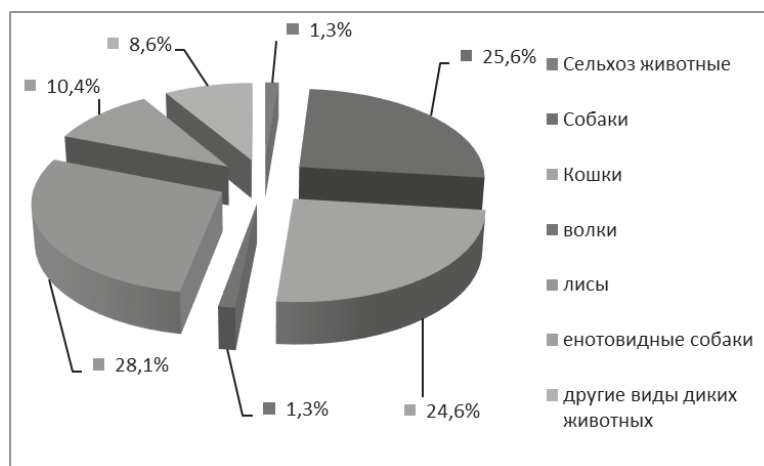


Диаграмма №1. Удельный вес разных видов животных, заболевших бешенством 2017-2021 г.г.



своем проявлении характеризуется цикличностью, то есть закономерно происходят циклические спады и подъемы.

На графике наглядно отражено, как за наблюдаемые годы на территории Смоленской области протекает эпизоотический процесс бешенства животных. Мы видим, как закономерно чередуются циклические спады и подъемы, характерные для неконтролируемого, естественного развития природной эпизоотии. Спады заболевания вызываются, как правило, в результате изменения численности хищников, связанные с гибелью от бешенства, а новые подъемы обусловлены увеличением численности за счет приплода.

Количество животных, заболевших бешенством на территории районных муниципальных образованиях Смоленской области за пятилетний период, отражено в таблице № 1.

Данные таблицы за указанный период показывают, что заболевание бешенством животных возникало практически на территории всех районных муниципальных образованиях в большем или меньшем количестве. Наибольшее число случаев бешенства регистрировалось в Вяземском, Гагаринском, Монастырщинском, Смоленском, Починковском районах и г. Смоленске. В ряде районов происходило увеличение случаев заболева-

ния бешенством домашних животных, по отношению к диким. В одних районах случаи заболевших домашних животных превышали количество заболевших диких животных, в других равны, а в третьих ниже.

Заболевание отмечалось у животных разных видов, в дикой фауне болели лисы, енотовидные собаки и другие (хорьки, куницы, волки, ежи, лоси), среди домашних плотоядных - собаки и кошки, а также сельскохозяйственные животные крупный и мелкий рогатый скот.

Анализ данных указывает на то, что среди заболевших животных, лисы занимают пока лидирующее место и остаются самым многочисленным и важным источником, распространения бешенства. В исследуемый период фактически во всех случаях источником заражения домашних и сельскохозяйственных животных являлись дикие хищники, которые давно расселились вблизи городов и других населенных пунктов.

С 2017 по 2021 годы в области было зарегистрировано 257 неблагополучных пунктов, в которых заболели животные бешенством.

Количество неблагополучных пунктов по годам и видам животных представлены в диаграмме №2.

За отчетный период по годам отмече-

Таблица №1
Количество заболевших животных бешенством по видам
в Смоленской области в 2017 - 2021 годы.

Годы	Виды заболевших животных								Все го
	Со- баки	Ко шк и	Круп- ный рога- тый скот	Мел- кий рога- тый скот	В ол ки	Ли- сы	Ено- тови дные соба- ки	Др уги е ди- кие зве- ри	
Велижский	1	3	-	-	-	1	-	1	6
Вяземский	7	5	1	-	-	10	2	2	27
Гагаринский	10	13	-	1	-	14	5	2	49
Глинковский	-	-	-	-	-	5	3	1	9
Демидовский	1	3	-	-	-	2	2	-	8
Дорогобужский	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Духовщинский	2	-	-	-	-	1	1	-	4
Ельнинский	3	5	-	-	-	5	1	2	16
Ершицкий	2	3	-	-	-	1	2	1	9
Кардымовский	1	-	-	-	1	7	3	2	14
Краснинский	5	4	-	1	-	5	4	3	22
Монастырщинский	6	7	2	-	1	16	5	5	44
Новодугинский	3	1	-	-	-	2	2	1	9
Починковский	6	9	-	-	2	9	3	4	33
Рославльский	15	12	-	-	-	3	1	1	25
Руднянский	11	9	-	-	1	4	1	-	26
Сафоновский	8	6	-	-	-	10	4	3	31
Смоленский	23	20	-	-	-	34	9	9	97
Сычевский	1	-	-	-	-	2	1	1	5
Темкинский	7	5	-	-	1	8	3	4	28
Угранский	3	3	1	-	1	5	4	5	22
Хиславичский	1	-	-	-	-	1	-	-	2
Холм-Жирковский	1	-	-	-	-	1	-	-	2
Шумяцкий	3	3	-	1	-	5	1	1	14
Ярцевский	3	2	-	-	-	3	-	-	8
г. Смоленск	19	23	-	-	-	1	-	-	44
Итого	142	136	4	3	7	155	57	48	554

но, что всего имелось 257 неблагополучных пунктов. Из них в 4 заболели сельскохозяйственные крупный и мелкий рогатый скот, в 83 – домашние и в 170 – дикие животные. Динамика количества неблагополучных пунктов по годам имеет волнообразный характер. В 2017- 2018 году отмечался максимальный рост количества неблагополучных пунктов по всем видам

животных. Однако в 2019 году произошло уменьшение их количества среди диких животных практически в два раза, а у домашних остались на уровне 2017 года, предпосылками скорее всего послужила оральная вакцинация, которая была проведена в 2018 году, где было разложено больше всего приматов с вакциной для диких животных. За 2020 год количество

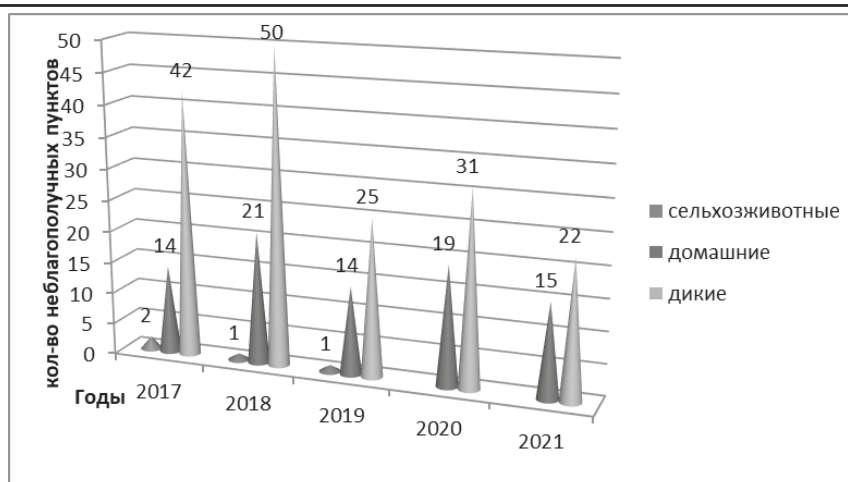


Диаграмма №2. Количество неблагополучных пунктов возникших за 2017-2021 годы

неблагополучных пунктов увеличилось и среди диких и домашних животных, а в 2021 году произошло их незначительное уменьшение. В сложившихся в настоящее время условиях основой профилактики бешенства животных является своевременная вакцинация и в требуемых объемах. Данные таблицы №3 отражают масштабы этой работы.

Противоэпизоотические мероприятия в основном в области направлены на регулирование численности диких плотоядных животных и проведение оральной вакцинопрофилактики в охотугодиях и вокруг городских территорий (полигоны ТБО, свалки пищевых отходов и др.). Анализ данных таблицы показывает, что ежегодно проводится оральная иммунопрофилактика, но ежегодно вакцина поступает в различном количестве, которой недостаточно для масштабной вакцинации на всей территории области. Вакцинация других видов животных в области проводится ежегодно в полном объеме. Проведение противоэпизоотических мероприятий по вакцинопрофилактике пока не могут повлиять на эпизоотическую обстановку.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных приведенных в статье подтверждает, что бешенство – не случайная инфекция, а закономерная, на тер-

ритории области и является природно-очаговой инфекцией.

Увеличением заболеваемости собак и кошек являются: неконтролируемый рост поголовья домашних животных, особенно среди безнадзорных, а также не соблюдение правил их содержания. Таким образом, прослеживается тенденция к замене очагов природного и антропургического типа бешенства на смешанный.

Оральная вакцинация диких плотоядных на протяжении многих лет является главным противоэпизоотическим мероприятием, но ожидаемого положительного эффекта, она не получила. В первую очередь это связано с тем, что масштаб самих мероприятий огромен как и территория России и также в каждом субъекте и требует огромных финансовых затрат.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках госзадания ФГБНУ ФНЦ ЛК (тема № FGSS-2019-0012).

THE SPREAD OF ANIMAL RABIES ON THE TERRITORY OF THE SMOLENSK REGION

N. I. Tselueva - Leading Researcher, Candidate of Veterinary Sciences Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center of Bast Crops".

Таблица №3

Вакцинация животных по видам против бешенства в Смоленской области с 2017 по 2021 г.г.

Виды животных	Годы				
	2017 (тыс.гол.)	2018 (тыс.гол.)	2019 (тыс.гол.)	2020 (тыс.гол.)	2021 (тыс.гол.)
Дикие плотоядные	150,0	465,0	300,0	200,0	200,0
Кошки	67,3	65,7	64,9	58,9	66,4
Собаки	62,9	64,2	63,1	59,6	68,6
Крупный рогатый скот	129,6	145,5	148,7	161,9	161,2
Лошади	1,4	1,4	1,3	1,2	1,2
Мелкий рогатый скот	36,2	36,5	34,6	32,3	30,2
Олени	0,007	0,6	1,7		0,115
Пушные звери				0,003	0,003
Верблюды				0,003	0,003
Медведь					0,001

ABSTRACT

The article analyzes the occurrence and spread of animal rabies disease in the Smolensk region for 2017-2021. At the same time, the following were studied: the incidence rate among susceptible species of farm animals, domestic carnivores and wild fauna, the geographical location of disadvantaged territories in which natural foci of rabies were activated during the specified period and the results of work on preventive measures and the elimination of animal diseases with rabies.

Starting from the 80s of the last century, the natural type of rabies epizootics began to spread on the territory of the region, this also indicates the presence of a reservoir of the causative agent of infection, the formation and persistent preservation of natural foci of rabies, supported not only by foxes, but also raccoon dogs, wolves.

As the analysis of the epizootic situation of animal rabies disease shows, the main source and distributor of rabies in the region are representatives of the canine family, who have been supporting stable foci of sylvatic rabies for many years. Their share among infected wild animals for five years (2017-2021) accounts for 48.5% of cases of rabies, but at the same time, during the analyzed

period, rabies of domestic animals increases and amounts to 50.2%, which is reflected in chart No. 1.

Animal rabies has spread and is firmly rooted in the Smolensk region, which has actually turned into a vast, unified natural focal area.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ведерников, В.А. /Краткая характеристика обстановки по бешенству животных, сложившейся в России в октябре 2010 года. Краткая характеристика эпизootической ситуации по бешенству, сложившейся в октябре 2010 года в Центральном экономическом районе России / Ведерников В.А., Балдина И.В. / Ветеринарная жизнь. – 2010. – № 23. – С. 2.
2. Макаров В.В., Гулюкин А.М., Гулюкин М.И. /Бешенство: Естественная история на рубеже столетий/. Москва, Зооветкнига. 2015, с.100
3. Сковрцов В.Н. [и др.]. / Эпизоootическая ситуация по бешенству на Белгородчине в 20-е годы XX века / Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2017. №2. С.108-113.
4. Хисматуллина Н.А., Гулюкин А.М., Кулакова С.Р., Амирова И.В. /Совершен-

ствование мер борьбы с бешенством в Смоленской области/. Ветеринария. 2011. №4. С.24 – 27.

5. Шабейкин А.А., Зайкова О.Н., Гулюкин А.М. /Обзор эпизоотической ситуации по бешенству в Российской Федерации за период с 1991 по 2015 г.г/. Ветеринария Кубани. 2016. № 4. С. 4 – 6.

6. Целуева Н.И. /Анализ изменений эпизоотической обстановки по важнейшим зооантропонозам в Смоленской области. Диссертация на соискание ученой сте-

пени кандидата ветеринарных наук. Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко/. Москва, 2006 г.

7. Целуева Н.И. Кугелев И.М. / Особенности эпизоотической ситуации по бешенству животных в Смоленской области/. Ветеринария. 2018-№3. С.21-23.

8. Целуева Н.И., Гулюкин А.М. /Обзор эпизоотической ситуации по бешенству в Смоленской области/. Ветеринария. 2021 №1. С. 12-15.

УДК 619:612.1:579.62:636.2:578.828.11

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.36

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПОТОМСТВА BLV-ИНФИЦИРОВАННЫХ КОРОВ ПРИ КОРРЕКЦИИ ДИСПЕПСИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ

Красникова Е.С. – д.вет.н., доцент – проф.каф. – ORCID 0000-0003-4395-5862; Радионов Р.В. – к.биол.н. – доцент каф. – ORCID 0000-0002—8586-2691; Красников А.В. – д.вет.н., доцент – зав. каф. зоотехнии и ветеринарии ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ – ORCID 0000-0002-4127-8725

Ключевые слова: телята, диспепсия, энзоотический лейкоз, прирост массы тела, гематологические показатели. **Keywords:** calves, dyspepsia, enzootic leukemia, weight gain, hematological parameters.



РЕФЕРАТ

Потомство BLV-инфицированных коров относится к группе риска по причине снижения у них жизнеспособности и показателей продуктивности. Цель настоящих исследований - сравнительный анализ гематологических показателей и индикаторов прироста массы тела телят, полученных от иммуноскомпрометированных коров, в процессе коррекции их клинического статуса с применением разработанной нами композиции (патент № 2646831) и антибиотика широкого спектра действия. Телята, полученные от BLV-инфицированных матерей имели массу тела меньше на 6-7%, чем потомство интактных коров. При коррекции диспепсических проявлений у телят предложенным нами способом, среднесуточный прирост массы тела животных сохранялся на уровне с интактными (630-660 г/сутки), а при применении только антибактериального препарата он составлял 300-500 г в сутки. Гематологические исследования показали, что клинические проявления диспепсии у телят неонатального возраста сопровождаются появлением маркеров гиповолемии и лейкоцитоза, присутствие которых, при условии терапии, не отмечается к 12-му дню жизни. Показатель глюкозы крови телят с диспепсическим синдромом в первые сутки жизни был незначительно снижен, при этом отмечалось изменение электролитного состава крови, снижение количества альбумина и общего белка кро-

ви по сравнению с интактными животными. Таким образом, наши исследования показали, что применение разработанной нами лекарственной композиции для коррекции диспепсических проявлений у телят неонатального возраста, полученных от иммуноскомпрометированных коров, способствует сохранению у животных показателей прироста массы тела, что обусловлено быстрой нормализацией гомеостаза их организма.

ВВЕДЕНИЕ

Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота многие десятилетия занимает лидирующие позиции в перечне наиболее актуальных заболеваний продуктивных животных [5]. Связано это не только с ущербом, причиняемым заболеваемостью взрослого скота, но и со снижением качества получаемого от коров потомства. В частности, у телят от иммуноскомпрометированных матерей, чаще развиваются проявления диспепсии [4]. По некоторым данным, диспепсический синдром может сопровождаться потерей до 5% от поголовья неонатального молодняка [3]. Вместе с тем, комплексный подход к ранней терапии диспепсических проявлений у телят 3-5 дневного возраста может способствовать выздоровлению до 100% заболевшего поголовья [2].

Телят, полученных от больных и инфицированных лейкозом коров, можно отнести к группе риска не только по причине повышенной заболеваемости и уменьшения сохранности поголовья, такие телята характеризуются снижением показателей продуктивности, связанным с изменением их гомеостаза. В этой связи целью наших исследований стал сравни-

тельный анализ гематологических показателей и индикаторов прироста массы тела телят, полученных от иммуноскомпрометированных коров, в процессе коррекции их клинического статуса с применением разработанной нами композиции (патент № 2646831) в сравнении с антибиотиком широкого спектра действия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на телятах неонатального возраста голштинской породы, в количестве 1531 голова, принадлежащих КХ «Заря» Тамалинского района Пензенской области, где регулярно регистрируется лейкоз крупного рогатого скота. У телят, полученных от инфицированных лейкозом коров, в большинстве случаев отмечали проявления диспепсии (метеоризм кишечника, колики). С терапевтической целью, телятам в количестве 1310 голов выпаивали с помощью сосковой поилки разработанную нами композицию, имеющую в своем составе из расчета на 100 мл: АСД-2 фракцию (1 мл), 4%-ный раствор гентамицина сульфата (5 мл) и фуразолидон (0,1 г), натошак утром и вечером в течение 3-5 дней до исчезновения диспепсических проявлений. Контрольной группе животных в количестве

Таблица 1

Динамика массы тела телят

Группа животных	Масса тела, кг			
	1 сутки	10 сутки	20 сутки	30 сутки
Телята от интактных коров	37,2±1,2	43,5±1,4	50,9±1,6	58,8±1,7
Телята от <i>BLV</i> -инфицированных коров (композиция)	35,1±0,9	41,3±1,1	47,8±1,3	54,9±1,4
Телята от <i>BLV</i> -инфицированных коров (энрофлон)	34,6±0,8	37,8±0,9*	43,3±1,2*	50,4±1,3*

Примечание – * - достоверные отличия от контрольной группы, $p < 0,05$.

Таблица 2

Динамика показателей общего анализа крови телят в динамике лечения

Показатель	Возраст и группа телят			Реф.знач.
	1 сутки	12 сутки (композиция)	12 сутки (энрофлон)	
RBC, $10^{12}/L$	4,1±0,2	7,8±0,5	5,9±0,6*	5-8
HGB, g/l	124,5±11,5	105,0 ±9,0	101,0 ±8,2	80-120
MCHC, g/l	346,0±11,0	339,0±9,0	337,0±12,0	300-350
RDWc, %	17,8±1,2	18,9±1,6	17,9±1,1	x
MCV, fl	50,4±0,9	47,5±3,5	49,3±4,5	40-50
WBC, $10^9/L$	27,1±4,0	23,8±2,3	26,2±2,5*	4-10
LYM, %	65,5±16,5	57,6±5,6	59,1±5,8	45-65
MON, %	2,9±0,2	4,0±0,4	3,6±0,3	2-7
GRA, %	31,6±16,7	38,4±3,3	37,3±3,6	16-75
PLT, $10^9/L$	425,0±38,0	293,0±38,0	314,0±32,0	100-400
MPV, fL	5,1±0,1	6,5±0,3	5,9±0,2	x

Примечание – * - достоверные отличия показателей между группами, $p < 0,05$.

221 голова, лечение осуществляли антибиотиком энрофлоном 10% в соответствии с инструкцией.

Взвешивание телят проводили на платформенных весах, фиксировали прирост массы тела на 1, 10, 20 и 30 сутки жизни.

Кровь для клинико-морфологического и биохимического анализа крови отбирали у телят на первые сутки жизни (до начала лечения) и на 12 сутки жизни – через 7-10 дней после устранения проявлений диспепсии. Изучение морфологического состава крови телят осуществляли на гематологическом анализаторе автоматического типа PCE-VET (USA), биохимических показателей крови – на биохимическом анализаторе полуавтоматического типа BioChemSA (USA) с использованием реагентов линии Диакон-ДС (АО «ДИАКОН-ДС», Россия).

Результаты исследований обрабатывали с помощью программы Statistica 6 на базе компьютера с ОС Windows 7 и процессором Intel Core 2 Duo.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты сравнительной весомерии показали, что телята, полученные от BLV-инфицированных матерей имели массу тела меньше на 6-7%, чем потомство интактных коров. При коррекции диспепси-

ческих проявлений энрофлоном прирост массы тела телят был меньше, чем у потомства интактных к лейкозу коров и составлял от 300 до 500 г в сутки. В то время как выпойка телят разработанной нами лекарственной композицией способствовала сохранению среднесуточных приростов массы тела животных на уровне с интактными: 630-660 г/сутки (таб.1).

Полученные нами данные коррелируют с результатами Г.А. Бурменской и др., констатирующими, что своевременная комплексная терапия диспепсии у телят способствует поддержанию среднесуточных приростов массы тела животных на уровне 0,52-0,67 кг [1]. В свою очередь А.А. Эленшлегер и Е.О. Политова сообщают, что отсутствие адекватного лечения диспепсии приводит к тому, что прирост массы тела у страдающих диспепсией телят не превышает 300-500 г/сутки, что может быть обусловлено доминированием катаболических процессов над анаболическими [6].

Для обоснования полученных данных нами были выполнены гематологические исследования, показавшие, что клинические проявления диспепсии у телят неонатального возраста сопровождаются

Таблица 3

Динамика биохимических показателей крови телят при лечении диспепсии разработанным способом

Показатель	Возраст телят			
	1 сутки	12 сутки (композиция)	12 сутки (энрофлон)	Реф.знач.
ЩФ, Е/л	1143,0±96,0	710,1±68,9	647,4±51,2*	18-153
Мочевина, ммоль/л	4,0±0,4	4,5±0,5	4,7±0,4	3,3-5,0
Креатинин, мкмоль/л	243,6±32,6	143,6±5,1	151,6±4,9	56-162
Глюкоза, ммоль/л	2,0±0,4	3,4±0,3	2,4±0,2*	2,3-4,1
Общий белок, г/л	39,4±8,9	57,8±5,3	47,2±4,3*	62-82
Альбумин, г/л	18,9±1,3	29,6±3,1	22,6±2,1*	28-39
АСТ, Е/л	40,3±3,0	43,4±4,8	46,1±4,5	45-110
АЛТ, Е/л	18,9±1,2	20,6±3,4	22,3±2,7	6,9-35
Билирубин общ, мкмоль/л	4,0±0,3	3,6±0,3	4,0±0,4	0,7-14
Билирубин прямой, мкмоль/л	1,9±0,2	1,6±0,3	1,7±0,2	0-5,1
Са, ммоль/л	2,2±0,1	2,5±0,3	2,4±0,2	2,1-2,8
Р, ммоль/л	1,4±0,1	1,3±0,1	1,4±0,1*	1,4-2,5
Са/Р	1,6	1,9	1,7*	2
Мg, ммоль/л	1,3±0,1	1,1±0,1	0,9±0,1	0,7-1,2

Примечание – * - достоверные отличия показателей между группами, $p < 0,05$.

появлением в крови маркеров гиповолемии и лейкоцитоза, выраженность которых, при условии терапии, снижаются к 12-му дню жизни. При этом относительное содержание фракций белых клеток крови оставалось в пределах референсных значений. Вместе с тем необходимо отметить, что применение композиции способствовало более быстрой нормализации гемопоза и снижению признаков воспаления (таб. 2).

Большинство биохимических показателей крови телят в динамике лечения изменялись достоверно. Некоторые показатели, такие как активность щелочной фосфатазы и содержание креатинина, имели широкие пределы варьирования, что можно связать с разной степенью дегидратации. Количество глюкозы в сыворотке крови телят с диспепсическим синдромом было несколько снижено в первые сутки, что может быть обусловлено нарушением окислительно-восстановительных реакций. Было отмечено изменение соотношения электролитов крови, вероятно обу-

словленное нарушением кишечной абсорбции при развитии диареи, чем также объясняется сниженное содержание альбумина и общего белка крови по сравнению с интактными животными. В процессе лечения эти показатели пришли в норму у телят, которые получали композицию и приблизились к ней при использовании антибиотика. Такие печеночные маркеры, как количество общего и прямого билирубина сыворотки крови были в пределах референсных значений, активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы, как и их соотношение, не имели выраженной динамики (таб. 3).

Полученные нами данные коррелируют с мнением ряда исследователей. Так, Р.О. Васильев и Т.А. Трошина констатируют присутствие лейкоцитоза у телят с клиническими признаками диспепсии и отмечают снижение содержания лейкоцитов в динамике лечения [2]. Эленшлегер А.А. сообщает об уменьшении уровня метаболизма у больных диспепсией телят [6].

ВЫВОДЫ

Таким образом, наши исследования показали эффективность применения разработанной нами лекарственной композиции для коррекции диспепсических проявлений у телят неонатального возраста, полученных от иммуноскомпрометированных коров, способствующей сохранению у животных показателей прироста массы тела, что обусловлено быстрой нормализацией гомеостаза их организма и аргументировано результатами клинико-морфологического и биохимического анализа крови телят.

PHYSIOLOGICAL STATUS OF THE BLV-INFECTED COWS OFFSPRING UNDER DYSPEPTIC MANIFESTATIONS CORRECTION

Krasnikova E.S. - doctor of veterinary science, associate professor, Radionov R.V. - candidate of biological sciences, Krasnikov A.V. - doctor of veterinary science, associate professor Michurinsk State Agrarian University

ABSTRACT

The BLV-infected cows' offspring are at risk due to a decrease in their viability and productivity indicators. The purpose of the studies is a comparative analysis of hematological parameters and indicators of body weight gain in obtained from immunocompromised cows calves when correcting their clinical status using the composition we have developed (patent No 2646831) and a broad-spectrum antibiotic. According to our data, calves from BLV-infected mothers were born with a body weight of 6-7% less than calves from intact cows. With the correction of dyspeptic manifestations in calves by the proposed method, the average daily gain in animals remained at the level with intact ones (630-660 g / day), and when using an antibiotic, it was 300-500 g per day. Hematological studies have shown that with clinical manifestations of dyspepsia in neonatal calves, hypovolemia and pronounced leukocytosis are noted in the blood, the signs of which decrease by the 12th day of life during therapy. The glucose of blood serum in calves with dyspeptic syndrome was slightly reduced on the first day. There was a change in the blood electrolytes ratio, a decrease in

total blood protein and albumin content, compared to intact animals. Thus, our studies have shown that when correcting dyspepsia in neonatal calves from immunocompromised cows using the composition we have developed, the body weight gain retained, which was due to the rapid normalization of the homeostasis in animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бурменская Г.А. Терапевтическая эффективность препарата «БАЦЕЛЛ-М» при диспепсии телят / Г.А. Бурменская, Д.П. Винокурова, М.Н. Лифенцова // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2016. – Т. 52, № 3. – С. 12-15.
2. Васильев Р.О., Сравнительная эффективность разных схем лечения диспепсии у телят / Р.О. Васильев, Т.А. Трошина // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 4. – С. 109-114.
3. Мосолков А.Е. Зависимость некоторых морфологических показателей крови больных диспепсией телят от уровня витаминов А и Е в крови стельных коров с учетом сезонов года / А.Е. Мосолков // Вестник АлтГАУ. – 2004. – №2 (14). – С. 61-62.
4. Радионов Р.В. Применение новой лекарственной композиции для лечения диспепсии телят, полученных от BLV-инфицированных коров / Р.В. Радионов, Е.С. Красникова, А.С. Белякова // Вестник КрасГАУ. - 2019. - № 2 (143). - С. 77-84
5. Целуева Н.И. Противоэпизоотические мероприятия при лейкозе крупного рогатого скота в хозяйствах Смоленской области / Н.И. Целуева // Международный вестник ветеринарии. - 2021. - № 1. - С. 42-48
6. Эленшлегер А.А. Оценка определения коэффициента катаболизма у новорожденных телят, больных диспепсией / А.А. Эленшлегер, Е.О. Политова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 4. – С. 114-119.



ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК 616.993.161

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.41

МОНИТОРИНГ ЛЕЙШМАНИОЗА СОБАК В РЕСПУБЛИКЕ АРМЕНИЯ

Слободяник Р. В. - ветеринарный врач, к.в.н. (ORCID ID: 0000-0001-6656-8027), Зыкова С. С. - д.б.н., доцент, профессор кафедры кинологии (Пермский военный институт войск национальной), Ванага Л.В. – вет. врач ветеринарного центра «Жолли», Республика Армения, (ORCID ID: 0000-0002-8219-6283), Щербаков О. В. - к.б.н., с. н. с. лаборатории общей паразитологии и гельминтологии, Научного центра зоологии и гидробиологии НАН РА, Республика Армения, (ORCID ID: 0000-0001-7533-1670)

Ключевые слова: лейшманиоз, собаки, Армения, висцеральная форма лейшманиоза (ВЛ), кожная форма лейшманиоза (КЛ). **Key words:** leishmaniasis, dogs, Armenia, the cutaneous form of leishmaniasis (CL), the visceral form of leishmaniasis (VL)



РЕФЕРАТ

Авторы проанализировали доступные источники литературы, статистические данные и результаты собственных наблюдений по встречаемости лейшманиоза в Республике Армения. В период с июня 2019 года по декабрь 2021 года было обследовано 375 собак различных пород. Комплексному исследованию с лабораторной диагностикой сыворотки крови на выявление антигена *Leishmania infantum* были подвергнуты 135 животных. У 68 собак антигены выявляли с помощью иммуно-хроматографической бесприборной тест-системы VetExpert Leishmania Ab. В исследованиях авторов подтверждены очаги инвазии в столице Республики Армении г. Ереване и других городах республики. В проведенных исследованиях у пораженных лейшманиозом животных преобладала кожная форма лейшманиоза (КЛ), которая регистрировалась в 85,3% случаях, а висцеральная форма лейшманиоза (ВЛ) – в 14,7% случаях. Половой и породной предрасположенности исследуемых собак к заболеванию лейшманиозом авторами не обнаружено. Висцеральная форма лейшманиоза в проведенных исследованиях регистрировалась у собак в возрасте старше 4-х лет. Авторы считают, что в ближайшей перспективе необходимо проведение эпидемиологических, эпизоотологических и энтомологических исследований для постоянного мониторинга ситуации за лейшманиозом в Республике Армения.

ВВЕДЕНИЕ

Паразитические простейшие из рода *Leishmania*, который насчитывает более двух десятков видов, вызывают лейшманиоз. Основными переносчиками лейшманиоза являются около 90 видов кровососущих насекомых. Чаще все лейшманиоз передают москиты, относящиеся к классу *Insecta*, отряду *Diptera*, семейству *Psychodidae*, подсе-

мейству *Phlebotomia*. роду *Phlebotomus*.

Лейшмании, попав в желудок москита с кровью больного животного, мигрируют и к концу первых суток безжгутиковые (амастиготные) формы паразита в желудке москита трансформируются в жгутиковые (промастиготные) формы. На третьи сутки паразиты скапливаются в преджелудке москита, а на четвертые – в глотке. Таким образом, для человека и

животных москиты становятся заразными через 7-8 суток после насасывания в желудок зараженной крови.

Различают три основные формы болезни: ВЛ (болезнь кала-азар), КЛ, слизисто-кожный лейшманиоз. ВЛ обладает самым большим эпидемическим потенциалом и летальностью. КЛ сопровождается появлением язв, нарывов. Слизисто-кожная форма протекает с образованием гнойных язв и нарывов на слизистой. Различают также посткалазарный КЛ.

Для человека и животных из-за развивающихся осложнений (лихорадка, гепато- и спленомегалия, анемия) наиболее опасным является ВЛ, который в случаях отсутствия лечения приводит в 95% к летальному исходу. По оценке ВОЗ эта форма лейшманиоза остается одной из паразитарных инвазий, имеющая наиболее высокие эпидемические потенциалы и смертность. В 2020г. информация о 90% новых случаев висцерального лейшманиоза поступала из 10 стран Африки и Азии: Эфиопии, Эритрее, Бразилии, Индии, Кении, Сомали, Южном Судане, Судане, Йемене. Китае. Согласно статистике ВОЗ, лейшманиозом страдают около 12 миллионов человек по всему миру. Ежегодно этой инвазией заражается от миллиона до двух миллионов жителей Земли [1]. В этих странах распространены виды москитов рода *Phlebotomus*, которые являются антропофилами, в то время как в Греции, Черногории распространены зоофильные виды *Ph. neglectus*, *Ph. perniciosus* [2].

Москиты нападают в жаркие дни, в безветренную погоду, с сумерек до рассвета. Максимум активности нападения отмечается с наступлением темноты до полуночи [3].

К месту укуса москита направляются полиморфоядерные нейтрофилы, которые фагоцитируют паразитов (внутри них лейшмании не размножаются). При апоптозе нейтрофилы уничтожаются макрофагами. В макрофагах в течение 2-5 дней лейшмании трансформируются во внутриклеточную морфологическую форму – амастиготу, имеющую короткий

жгутик, не выходящий за пределы клетки. Амастигота внутри «паразитифорной вакуоли» размножается. Цикл размножения составляет 24 часа. При КЛ воспалительные инфильтраты образуются в коже и содержат макрофаги, лимфоидные, плазматические клетки. При ВЛ очаги инвазии образуются в органах ретикулоэндотелиальной системы [4].

В среднем от ВЛ в мире погибает до 30 тысяч человек и по показателям смертности висцеральный лейшманиоз уступает только малярии. В Российской Федерации регистрируются только завозные случаи лейшманиоза [5]. Это связано с выездом в страны с теплым климатом – тропики, субтропики. Риск заражения лейшманиозом остается при посещении стран ближнего зарубежья: Азербайджана, Армении, Грузии, Кыргызстана, Таджикистана, Узбекистана в пик активности переносчиков возбудителя (май-сентябрь) [6,7].

Авторы проанализировали данные литературных источников, статистики и результаты собственных наблюдений за ситуацией по лейшманиозу в республике. Исследования, проведенные в XX столетии, выявили широкое распространение лейшманиозов на территории Армении [8-10].

В результате проведения комплекса мер по уничтожению безнадзорных (бездельческих) собак и противомоскитных обработок во второй половине XX века данная болезнь была снижена до минимума. В связи с изменением политической и социально-экономической ситуации, эпидемиологическая обстановка по лейшманиозам в Республике Армения стала ухудшаться. В последние десятилетия в республике регистрируются как завозные, так и местные случаи болезни [11-13]. Очаги лейшманиоза имеются как в пограничных с Арменией республиках, так и в некоторых районах страны (Сюнике, Тавуше, Лори и в г. Ереване) [2].

Целью работы было изучение эпизоотической ситуации по лейшманиозу собак в условиях Республики Армения.

Таблица 1
Разнообразие пород собак, пораженных лейшманиями

№ п/п	Порода	Всего больных	Кобели	Суки
1.	Немецкие овчарки	13	7	6
2.	Хаски	12	7	5
3.	Дратхаар	1	-	1
4.	Кавказские овчарки (Гампр)	6	4	2
5.	Самоедская собака	1	-	1
6.	Йоркширский терьер	1	-	1
7.	Леонбергер	1	-	1
8.	Кокер спаниель	1	-	1
9.	Ротвейлер	1	1	-
10.	Пит-Бульт	1	1	-
11.	Кане-Корсо	2	1	1
12.	Померанский шпиц	1	1	-
13.	Английский мастиф	2	1	1
14.	Бельгийская овчарка (малинуа)	1	-	1
15.	Метис	24	10	14

Таблица 2
Половые различия кожной (КЛ) и висцеральной (ВЛ) формы лейшманиоза

№ п/п	Всего собак (кобели/суки)	Кожная форма (КЛ) лейшманиоза (кобели /суки)	Висцеральная форма (ВЛ) лейшманиоза (кобели /суки)
2019 г.			
1.	8 (6/2)	8 (6/2)	-
2020 г.			
2.	29 (13/16)	25 (9/16)	4 (1/3)
2021 г.			
3.	31 (20/11)	25 (16/9)	6 (4/2)

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Авторы провели мониторинг зарегистрированных случаев лейшманиоза собак в период с июня 2019 по декабрь 2021 года в условиях Республики Армения. Материалы были получены на базе лаборатории ветеринарного центра «Жолли» г. Еревана. Диагностика болезни проводилась с учетом комплекса исследований, включающий сбор анамнеза, клинические признаки, микроскопию мазков. Материал для исследования отбирался с кожных

поражений, селезенки и лимфатических узлов. Амастиготные формы обнаруживали в мазках из лимфатического аспирата, селезенки, кожных поражений, окрашенных по Романовскому-Гимзе или Diff-Quick.

Антигены *L. infantum* выявляли с помощью иммуно-хроматографической бесприборной тест-системы VetExpert Leishmania Ab (производство Корея). Ранее тест-системы были использованы для обнаружения другой трансмис-



Рис. 1. Поражение спинки носа при кожной форме лейшманиоза (Немецкая овчарка 3 года)



Рис. 2. Поражение спинки носа и глаз при кожной форме лейшманиоза (Бельгийская овчарка Малинуа 3 года).

сивной болезни – дирофиляриоза [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В период с июня 2019 по декабрь 2021 года были проведены обследования 357 собак различных пород, в возрасте от 9 месяцев до 8 лет из разных регионов Армении. У 135 собак были отобраны образцы сыворотки крови для выявления антигена *L. infantum*, в 68 случаях антиген был обнаружен – 82,4 % обследованных больных животных находились в открытых уличных вольерах и 17,6 % владельческих собак содержались в домашних условиях. Подавляющее большинство больных собак было зарегистрировано в различных районах г. Ереван – 79,4 %, а остальные 20,6 % больных животных были доставлены из Нагорного Карабаха – 5,9 %, г. Мегри – 4,4 %, а также единичными случаями из городов Горис, Ванадзор, Арташат, Эчмиадзин, Иджеван, Гарни.

На зараженность собак лейшманиями влияет, главным образом, не порода, а тип их содержания и хозяйственное назначение: безнадзорные, сторожевые и охотничьи собаки инвазируются значительно чаще из-за длительного пребывания их вне помещений и большей вероятности контактов с москитами. Все обследованные собаки, как в частном секторе города Еревана, так и собаки из других регионов республики и Нагорного Карабаха содержались, главным образом, на открытом воздухе.

Самая высокая инвазированность лейшманиями была выявлена у метисов и составила 35,3%, немецких овчарок – 19,1%, хаски – 17,6 %, кавказских овчарок (гампров) – 8,6 %, английских мастифов и кане-корсе – по 2,9 %, а у остальных собак – по 1,47%. Высокий процент зараженности лейшманиями метисов, немецких овчарок, хаски, а также кавказских овчарок (гампров) и низкий процент заражения других пород собак можно объяснить небольшой выборкой животных (табл. 1).

В проведенных исследованиях у инвазированных лейшманиозом животных преобладала форма КЛ, которая регистрировалась в 85,3% случаев, а форма ВЛ регистрировалась в 14,7% случаев (табл. 2). Общее поголовье зараженных лейшманиозом кобелей превышало поголовье сук, их соотношение составляло 57,4% к 42,6 %. При КЛ поголовье больных лейшманиозом кобелей составляло 53,4%, а сук – 46,6 %. При ВЛ соотношение между зараженными лейшманиозом кобелями и суками составляло 50 % на 50%.

Все обследованные собаки в возрасте до 9 месяцев были здоровы. Антигены *L. infantum* регистрировали у собак в возрасте с 9 месяцев до 8 лет. Общее число зарегистрированных больных животных составляло от 9 месяцев до года – 8,8 %, 2 лет – 16,2 %, 3 лет – 13,3 %, 4 лет – 19,1 %, 5 лет – 20,6 %, 6 лет – 13,3 %, 7 лет – 7,4 %, 8 лет – 1,3%.



Рисунок 3. Поражение ушных раковин на месте внедрения паразита (Немецкая овчарка 5 лет).

При КЛ регистрировались больные животные в возрасте от 9 месяцев до года – 10,3 %, 2 лет – 19 %, 3 лет – 15,5 %, 4 лет – 15,5 %, 5 лет – 22,4 %, 6 лет – 12,1 %, 7 лет – 5,2 % случаев. При ВЛ регистрировались больные животные в возрасте 4 лет – 40 %, 5 лет – 10 %, 6 лет – 20 %, 7 лет – 20 %, 8 лет – 10 % случаев.

При КЛ отмечались кожные изменения: эксфолиативный дерматит, язвы, эритемы, онихогрифоз, назальный и дигитальный гиперкератозы (рис.1,2,3). При осмотре глаз обнаруживали конъюнктивит, блефарит и кератит.

При ВЛ у собак отмечали: лихорадку, кожные изменения, лимфоаденомегалию, бледность слизистых оболочек, кахексию, спленомегалию, эпистаксис, асцит.

Половой и породной предрасположенности нами не обнаружено. ВЛ нами регистрировался у собак в возрасте старше 4-х лет.

Выявленные случаи лейшманиоза у собак различных пород подтверждают постоянную циркуляцию возбудителя в изучаемом регионе. Отсутствие профилактических мероприятий среди собак обуславливает риск увеличения числа инвазированных плотоядных животных и человека. Выявленные больные собаки постоянно проживали в Республике Армения и за пределы страны не выезжали. Во всех случаях лейшманиоз был обнаружен случайно, при проведении планового ветеринарного осмотра на приеме у ветеринарного специалиста.

ВЫВОДЫ

В Республике Армения наблюдается очаг как по кожному, так и по висцеральному лейшманиозу. Обнаружено, что у пораженных лейшманиозом животных преобладала форма КЛ, которая регистрировалась в 85,3% случаев, а висцеральная форма лейшманиоза регистрировалась в 14,7% случаях. Высокий процент регистрации лейшманиоза у собак наблюдается в г. Ереване (79,4 %) подтверждает наличие очага лейшманиоза в столице республики.

Половой и породной предрасположенности не обнаружено. ВЛ в проведенных исследованиях регистрировался у собак в возрасте старше 4-х лет, 82,4 % больных собак содержались в открытых уличных вольерах, что объясняет их заражение лейшманиями в результате укусов москитов.

Исходя из полученных данных следует, что в ближайшей перспективе необходимо проведение эпидемиологических, эпизоотологических и энтомологических исследований с разработкой системы для постоянного мониторинга ситуации за лейшманиозом в Республике Армения.

MONITORING OF LEISHMANIASIS OF DOGS IN THE REPUBLIC OF ARMENIA. Slobodyanik R. V., PhD, DVM. Zykova S. S., Professor of the Department of Cynology, Perm Military Institute of National Guard Troops, Vanaga L. V., DVM, MSc in Veterinary

**Medicine, «Joli» Veterinary Clinics,
Sherbakov O.V., DVM, PhD in Biology,
Scientific Center of Zoology and Hydroecology, Yerevan
ABSTRACT**

The authors analyzed the available literature data and statistics, and results can be found for leishmaniasis in Armenia. Between June 2019 and December 2021, 375 different breeds were deployed. 135 animals were subjected to a comprehensive study with laboratory diagnostics of blood serum for the detection of *Leishmania infantum* antigen. In 68 dogs, antigens were detected using the VetExpert Leishmania Ab immunochromatographic instrumentless test system. In the publication of the authors Yerevan and other cities of the republic. In the studies in animals affected by leishmaniasis, the cutaneous form of leishmaniasis (CL) prevailed, which was recorded in 85.3% of cases, and the visceral form of leishmaniasis (VL) was recorded in 14.7% of cases. Sexual and breed predisposition of the studied dogs to the disease with leishmaniasis was not found by the authors. The visceral form of leishmaniasis (VL) in the studies was recorded in dogs over the age of 4 years. The authors believe that in the near future it is necessary to conduct epidemiological, epizootological and entomological studies to continuously monitor the situation of leishmaniasis in the Republic of Armenia.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРА

1. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> (дата обращения 10.02.2022).
2. Казинян А.Л., Мхитарян А.Л., Асоян В.А. Клинико-лабораторная характеристика лейшманиоза в Армении // Актуальная инфектология. 2014. № 4(5) С. 131 – 135.
3. Мусабаев И.К. Руководство по зоонозным и паразитарным заболеваниям // Ташкент. «Медицина» УзССР. 1987. 544с. С-406-407.
4. Беляева Н.М., Трякина И.П., Синикин В.А., Карань Л.С., Муравьев О.Б., Никитина Г.Ю. Современные аспекты лейшманиоза. // Медицинский алфавит. 2017. Т.2 № 18 (315). С. 24-31.

5. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и защиты человека от 4 марта 2015 г. N 01/2160-15-27 «О ситуации по лейшманиозам в Российской Федерации».
6. Голубовская О.А. Трансмиссивные заболевания в Европе, передающиеся комарами и москитами // Клиническая инфектология и паразитология. 2012. № 3-4 (03). С 4-9.
7. Каримбекова Г.Н. современные аспекты клиники, диагностики и лечения кожного лейшманиоза // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2018. Т. 155. № 4. С. 58-61.
8. Исаакян А. Тропические болезни Армении. Труды Тропического института. - Т. 1. - 1924. - С. 115-138.
9. Карапетян Р. Случаи висцерального лейшманиоза в Ереване. Труды Института медицинской паразитологии и малярии. - Ер., 1949. - С.152-156.
10. Карапетян Р. Источник инвазии и природные очаги висцерального лейшманиоза в Армянской ССР. Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - N 4. - 1972. - С. 444-448.
11. Кешишян А., Манукян Д. Совершенствование системы эпиднадзора за лейшманиозом с учетом изменения климата в Армении. Изменение климата, вопрос 2. - Ер., 2003. -С. 237-241.
12. Кешишян А., Манукян Д., Мелик-Андреасян Г., Алексанян Ю. Нет случаев висцерального лейшманиоза в Мегринском районе Сюникского марза //Юбилейный сборник VII Национального научного медицинского конгресса «Здоровье человека». 2008. - 150 с.
13. Паронян Л.В., Апресян Р.В. Восстановление местной передачи висцерального лейшманиоза в Республике Армения // Материалы XIV Международной научно-практической экологической конференции 4-8 октября 2016 г. - Белгород. - С.182-183.
14. Слободяник Р.В., Зыкова С.С., Кряжев А.Л. Ретроспективный анализ дирофиляриоза в республике Армения // Международный вестник ветеринарии. 2020. №4 С. 41-49.



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 619: 616-099

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.47

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ГРУПП ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ И ФИТОСОРБЕНТОВ

Алехин Ю.Н.1 – д. вет. н., глав. науч. сотр., Понамарёв В.С.2- асс. (ORCID: 0000-0002-6852-3110), Попова О.С. 2- к.вет.н.,доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837),

1-ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», 2- ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины

Ключевые слова: ось «кишечник-печень», гепатопротекторы, фитосорбенты, патогенез, кишечная микробиота. **Key words:** gut-liver axis, hepatoprotectors, phytosorbents, pathogenesis, intestinal microbiota



РЕФЕРАТ

Сочетанное применение гепатопротекторов и фитосорбентов в теории является перспективным способом фармакотерапии коморбидных патологий, так как создаёт возможность представления их как результат расширенного поиска наиболее актуальных форм проявления нарушений обмена веществ, результаты которого позволили выявить общие закономерности из развития и соответственно основные направления их нивелирования.

Выявлено, что основным патогенетическим трендом являются сбои метаболических процессов в ЖКТ, что снижает эффективность кормления и обуславливает снижение или колебания продуктивности (или качества продукции), последующее накопление продуктов нарушенных процессов обмена веществ обладающих токсическими свойствами - развитие локального синдрома эндогенной интоксикации, нарушение процессов полостного и симбиотного пищеварения в ЖКТ, с усилением алиментарной недостаточности, функциональной перегрузки органов пищеварения и в первую очередь печени, дисбаланса микробиоты и локальных барьерных механизмов, генерализация патологического процесса в виде развития системной эндогенной интоксикации с соответствующей токсической депрессией иммунитета, функций органов и систем организма, в том числе нарушений функций и развития патологии гепатобилиарной системы, в виде системных метаболических нарушений с возникновением вторичного дефицита питательных и биологически активных веществ, нарушений кислотно-щелочного баланса и дистрофических явлений.

Основная цель данной статьи - на основе анализа литературных источников выявить патогенетические основы для сочетанного применения лекарственных препаратов групп гепатопротекторов и фитосорбентов.

Нами был проведён поиск оригинальных исследований в научных базах PubMed, Elsevier Science (Scopus) и Clarivate Analytics (Web of Science) за последние 20 лет для

выявления особенностей протекания вышеописанных процессов, после чего был проведён формализованный контент-анализ найденных публикаций.

Лучшее понимание различных механизмов, участвующих в патогенезе при участии печени и кишечной микробиоты, будет способствовать разработке улучшенных фармакологических подходов к терапии данных патологий.

ВВЕДЕНИЕ

Сочетанное применение гепатопротекторов и фитосорбентов в теории является перспективным способом фармакотерапии коморбидных патологий, так как создаёт возможность представления их как результат расширенного поиска наиболее актуальных форм проявления нарушений обмена веществ, результаты которого позволили выявить общие закономерности из развития и соответственно основные направления их нивелирования [1,2,3].

Выявлено, что основным патогенетическим трендом являются сбои метаболических процессов в ЖКТ, что снижает эффективность кормления и обуславливает снижение или колебания продуктивности (или качества продукции), последующее накопление продуктов нарушенных процессов обмена веществ обладающих токсическими свойствами - развитие локального синдрома эндогенной интоксикации, нарушением процессов полостного и симбиотного пищеварения в ЖКТ, с усилением алиментарной недостаточности, функциональной перегрузки органов пищеварения и в первую очередь печени, дисбаланса микробиоты и локальных барьерных механизмов, генерализация патологического процесса в виде развития системной эндогенной интоксикации с соответствующей токсической депрессией иммунитета, функций органов и систем организма, в том числе нарушений функций и развития патологии гепатобилиарной системы, в виде системных метаболических нарушений с возникновением вторичного дефицита питательных и биологически активных веществ, нарушений кислотно-щелочного баланса и дистрофических явлений [4,5].

Этот патогенетический каскад не только имеет клиническое значение, но и запускает патофизиологический порочный круг потенцирующий патогенез обменных патологий [6,7,8].

Основная цель данной статьи - на основе анализа литературных источников выявить патогенетические основы для сочетанного применения лекарственных препаратов групп гепатопротекторов и фитосорбентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами был проведён поиск оригинальных исследований в научных базах PubMed, Elsevier Science (Scopus) и Clarivate Analytics (Web of Science) за последние 20 лет для выявления особенностей протекания вышеописанных процессов, после чего был проведён формализованный контент-анализ найденных публикаций.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Имея информацию закономерностях развития патологии обмена веществ, перспективным направлением является разработка фармакологических средств, оказывающих влияние на доминирующие механизмы патогенеза: нивелирование локального эндотоксикоза, нормализация процессов полостного и симбиотного пищеварения - фитосорбенты, оптимизация функций печени с восстановлением её синтетических функций, со снижением выраженности системной эндогенной интоксикации и дистрофических явлений, нивелирования токсического прессинга органов и систем организма [9,10].

Исследования нозологической структуры заболеваемости животных выявили, что наиболее широкое распространение имеет коморбидный профиль патологии, т.е., сочетание двух и более самостоятельных болезней или синдромов [11,12,13].

При этом коморбидный профиль помимо технологических факторов, зависит от возраста, физиологического состояния и уровня продуктивности. Однако, постоянным компонентом его является болезни обмена веществ, нивелирование которых не только устраняет коморбидность, но и облегчает течение и повышает эффектив-

ность лечения основных заболеваний или способствует «самовыздоровлению» [14,15].

Причины возникновения, патогенез и формы проявления метаболических нарушений имеют региональные особенности, что исключает возможность проведения однотипных мер, однако, детализация причинно-следственных механизмов в условиях практики финансово затратно и требует участия узкопрофильных специалистов. Поэтому сохраняется шаблонный и в большинстве случаев малоэффективный подход к нормализации метаболического дисбаланса в организме животных [16].

Научный интерес к микробиоте кишечника совпал с глобальным увеличением распространенности заболеваний печени. Микробиота кишечника, которую также иногда называют “новым метаболическим органом”, теснейшим образом связана с печенью множеством метаболических реакций [17,18,19,20].

Ось кишечник-печень является следствием тесного анатомо-функционального, двунаправленного взаимодействия желудочно-кишечного тракта и печени, прежде всего через портальное кровообращение [21,22,23]. Симбиотические отношения между микробиотой и печенью регулируются и стабилизируются сложной сетью взаимодействий, которые включают метаболические, иммунные и нейроэндокринные перекрестные реакции между ними [24,25].

В целом, повышенная проницаемость кишечника и бактериальная транслокация могут позволить микробным метаболитам достичь печени, что унарушит метаболизм желчных кислот и будет способствовать дисмотильности кишечника и системному воспалению. Более того, процесс конъюгации желчных кислот напрямую зависит от микрофлоры кишечника [26,27,28].

Нарушение микробиома кишечника приводит к дисбактериозу и, в дальнейшем, к повышенной проницаемости кишечника, что позволяет транслоцировать микробы и микробные продукты, называ-

емые микробными или патоген-ассоциированными молекулярными паттернами. Иммунные рецепторы клеток печени могут идентифицировать эти паттерны, когда они находятся в кровообращении, и они могут привести к активации каскадов воспаления, вызывающих гепатопатии [29].

Печень же связывается с кишечником через билиарную систему и системный кровоток, высвобождая желчные кислоты и системные медиаторы воспаления, такие как цитокины. А желчные кислоты способны действовать не только как агенты, участвующие в солубилизации, но и дополнительно работать как сигнальные метаболиты, которые могут взаимодействовать с микробиотой и клеточными рецепторами кишечника [30].

Популяции клеток печени, включая клетки Купфера, печеночные звездчатые клетки, синусоидальные клетки, билиарные эпителиальные клетки и гепатоциты, экспрессируют врожденные иммунные рецепторы, известные как рецепторы распознавания образов, которые реагируют на постоянный приток микробных лигандов из кишечника [31].

Микробиота кишечника включает разнообразный спектр микроорганизмов, участвующих в метаболических, синтетических и регуляторных функциях, включая ферментацию неперевариваемых пищевых субстратов, синтез витаминов, метаболизм желчных кислот, регуляцию пролиферации эпителиальных клеток или модуляцию воспалительного ответа. Кишечная микробиота также препятствует колонизации патогенов, конкурируя за питательные вещества и пространство, и, таким образом, представляет собой первую линию защиты кишечного барьера.

ВЫВОДЫ

Полученные в результате анализа научной литературы данные подтверждают актуальность и перспективность сочетанного применения лекарственных препаратов групп гепатопротекторов и фитосорбентов как при отдельных патологиях рассматриваемых органов, так и коморбидных.

Различные нарушения функциональности оси «кишечник-печень» приводят к возникновению и прогрессированию патологий данных органов и общим метаболическим нарушениям.

Лучшее понимание различных механизмов, участвующих в патогенезе при участии печени и кишечной микробиоты, будет способствовать разработке улучшенных фармакологических подходов к терапии данных патологий.

PATHOGENETIC BASES OF THE COMBINED USE OF DRUGS FROM THE GROUPS OF HEPATOPROTECTORS AND PHYTOSORBENTS. Alekhin Yu.N. – doctor of veterinary sciences, chief researcher (All Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy), Ponamarev V.S., Assistant of the Department of Pharmacology and Toxicology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "SPbSUVM" (ORCID: 0000-0002- 6852-3110), Popova O.S.- PhD of veterinary science, docent (ORCID 0000 -0002-0650-0837).

ABSTRACT

The combined use of hepatoprotectors and phytosorbents in theory is a promising method of pharmacotherapy of comorbid pathologies, as it creates the possibility of presenting them as the result of an extended search for the most relevant forms of manifestation of metabolic disorders, the results of which made it possible to identify general patterns of development and, accordingly, the main directions for their leveling.

It was revealed that the main pathogenetic trend is the failure of metabolic processes in the gastrointestinal tract, which reduces the efficiency of feeding and causes a decrease or fluctuations in productivity (or product quality), the subsequent accumulation of products of disturbed metabolic processes with toxic properties - the development of a local syndrome of endogenous intoxication, a violation of the processes of cavitary and symbiotic digestion in the gastrointestinal tract, with increased alimentary insufficiency, functional overload of the digestive organs and primarily the liver, imbalance of the microbiota and local barrier

mechanisms, generalization of the pathological process in the form of the development of systemic endogenous intoxication with the corresponding toxic depression of immunity, functions of organs and body systems, including including dysfunctions and the development of pathology of the hepatobiliary system, in the form of systemic metabolic disorders with the occurrence of a secondary deficiency of nutrients and biologically active substances, acid disorders but alkaline balance and dystrophic phenomena.

The main purpose of this article is, based on the analysis of literary sources, to identify the pathogenetic basis for the combined use of drugs from the hepatoprotector groups and phytosorbents.

We searched for original studies in the scientific databases PubMed, Elsevier Science (Scopus) and Clarivate Analytics (Web of Science) over the past 20 years to identify the features of the above processes, after which a formalized content analysis of the found publications was carried out.

A better understanding of the various mechanisms involved in pathogenesis involving the liver and intestinal microbiota will contribute to the development of improved pharmacological approaches to the treatment of these pathologies.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Латентные нарушения метаболизма и риск развития патологии крови и печени в транзитный период у коров / Ю. Н. Алехин, В. И. Моргунова, Л. Н. Каширина, Ю. Е. Суханова // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2019. – № 3 (8). – С. 105-116. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2019.3.105.
2. Gut-liver axis modulation in fructose-fed mice: a role for PPAR-alpha and linagliptin / F. M. Silva-Veiga, C. S. Miranda, F. F. Martins [et al.] // Journal of Endocrinology. – 2020. – Vol. 247. – No 1. – P. 11-24. – DOI 10.1530/JOE-20-0139.
3. Woodhouse, C. Modulating the gut-liver axis and the pivotal role of the faecal microbiome in cirrhosis / C. Woodhouse, A. Singanayagam, V. C. Patel // Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London. – 2020. – Vol. 20. – No 5. – P. 490

- 500.–DOI10.7861/CLINMED.2020-0676.
4. Beyaz Coşkun, A. Therapeutic modulation methods of gut microbiota and gut-liver axis / A. Beyaz Coşkun, A. G. Sağdıçoğlu Celep // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2021. – DOI 10.1080/10408398.2021.1902263.
5. Blesl, A. The gut-liver axis in cholestatic liver diseases / A. Blesl, V. Stadlbauer // *Nutrients*. – 2021. – Vol. 13. – No 3. – P. 1-32. – DOI 10.3390/nu13031018.
6. Simbrunner, B. Therapeutic aspects of bile acid signalling in the gut-liver axis / B. Simbrunner, M. Trauner, T. Reiberger // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2021. – DOI 10.1111/apt.16602.
7. D'mello, C. The gut-liver-brain axis: Dietary and therapeutic interventions / C. D'mello, M. G. Swain // *The Complex Interplay Between Gut-Brain, Gut-Liver, and Liver-Brain Axes*, 2021. – P. 205-236. – DOI 10.1016/B978-0-12-821927-0.00007-3.
8. Gut-liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage? / C. Loguercio, T. De Simone, A. Federico [et al.] // *The American Journal of Gastroenterology*. – 2002. – Vol. 97. – No 8. – P. 2144-2146.
9. Vajro, P. Microbiota and gut-liver axis: Their influences on obesity and obesity-related liver disease / P. Vajro, G. Paoletta, A. Fasano // *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. – 2013. – Vol. 56. – No 5. – P. 461-468. – DOI 10.1097/MPG.0b013e318284abb5. – EDN RJSZZP.
10. Targeting the gut-liver axis in liver disease / R. Wiest, A. Albillos, M. Trauner [et al.] // *Journal of Hepatology*. – 2017. – Vol. 67. – No 5. – P. 1084-1103. – DOI 10.1016/j.jhep.2017.05.007.
11. Ойноккина, О. Ш. Дислипидемия и ассоциированные метаболические заболевания / О. Ш. Ойноккина, Е. И. Дедов // *Архив внутренней медицины*. – 2011. – № 1. – С. 67-73.
12. Ойноккина, О. Ш. Роль микробиоты кишечника в патогенезе дислипидемии и ассоциированных метаболических нарушений / О. Ш. Ойноккина, Е. Л. Никонен, И. З. Гиоев // *Доказательная гастроэнтерология*. – 2017. – Т. 6. – № 2. – С. 29-34. – DOI 10.17116/dokgastro20176229-34.
13. Изучение эффективности применения гепатопротектора "Гептрал" и сорбента "БАУ-А" при отравлении свиней афлатоксином В1 / С. А. Танасева, Э. И. Семенов, А. Р. Валиев [и др.] // *Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. – 2016. – № 3(19). – С. 93-99.
14. Ponomarev, V. The gut-liver axis in the liver's disease: the pathophysiological basic of dysbiosis and hepatopathy's pharmacorection / V. Ponomarev, O. Popova // *FASEB Journal*. – 2022. – Vol. 36. – No S1. – P. 3046. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3046. – EDN XYLFUR.
15. Дичева, Д. Т. Патогенетическое и клиническое значение оси "микробиота - кишечник - печень" / Д. Т. Дичева, Д. Н. Андреев // *Медицинский совет*. – 2022. – Т. 16. – № 7. – С. 69-75. – DOI 10.21518/2079-701X-2022-16-7-69-75. – EDN ZWZGUU.
16. Overview of the microbiota in the gut-liver axis in viral B and C hepatitis / M. A. Neag, A. D. Buzoianu, A. O. Mitre, A. Catinian // *World Journal of Gastroenterology*. – 2021. – Vol. 27. – No 43. – P. 7446-7461. – DOI 10.3748/wjg.v27.i43.7446. – EDN RSMGLF.
17. Imai, J. The pathogenic oral-gut-liver axis: new understandings and clinical implications / J. Imai, S. Kitamoto, N. Kamada // *Expert Review of Clinical Immunology*. – 2021. – Vol. 17. – No 7. – P. 727-736. – DOI 10.1080/1744666X.2021.1935877. – EDN PFVACI.
18. Simbrunner, B. Therapeutic aspects of bile acid signalling in the gut-liver axis / B. Simbrunner, M. Trauner, T. Reiberger // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2021. – DOI 10.1111/apt.16602. – EDN MMGXDD.
19. Gut-liver axis in cirrhosis: Are hemodynamic changes a missing link? / R. Maslennikov, V. Ivashkin, I. Efremova [et al.] // *World Journal of Clinical Cases*. – 2021. – Vol. 9. – No 31. – P. 9320-9332. – DOI 10.12998/wjcc.v9.i31.9320. – EDN XFXTME.
20. Trebicka, J. Gut-Liver Axis Links Portal Hypertension to Acute-on-Chronic Liver

- Failure / J. Trebicka, T. Reiberger, W. Laleman // *Visceral Medicine*. – 2018. – Vol. 34. – No 4. – P. 270-275. – DOI 10.1159/000490262. – EDN VHPVRG.
21. Wang, J. Roles of the inflammasome in the gut-liver axis (Review) / J. Wang, R. Dong, S. Zheng // *Molecular Medicine Reports*. – 2019. – Vol. 19. – No 1. – P. 3-14. – DOI 10.3892/mmr.2018.9679. – EDN MBJXLX.
22. Coffee prevents fatty liver disease induced by a high-fat diet by modulating pathways of the gut-liver axis / P. Vitaglione, I. Mennella, F. De Filippis [et al.] // *Journal of Nutritional Science*. – 2019. – DOI 10.1017/jns.2019.10. – EDN HPKTQT.
23. Gut-Liver Axis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Impact of the Metagenome, End Products, and the Epithelial and Vascular Barriers / A. Gil-Gómez, M. Romero-Gómez, P. Brescia, M. Rescigno // *Seminars in Liver Disease*. – 2021. – DOI 10.1055/s-0041-1723752. – EDN RQYPBP.
24. Flaxseed powder attenuates non-alcoholic steatohepatitis via modulation of gut microbiota and bile acid metabolism through gut-liver axis / C. Yang, M. Wan, D. Xu [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – No 19. – DOI 10.3390/ijms221910858. – EDN POKXMD.
25. Nonalcoholic fatty liver disease (Nafld) as model of gut-liver axis interaction: From pathophysiology to potential target of treatment for personalized therapy / F. Fianchi, A. Liguori, A. Gasbarrini [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – No 12. – DOI 10.3390/ijms22126485. – EDN LMYCIB.
26. Ursodeoxycholic Acid Treatment Restores Gut Microbiota and Alleviates Liver Inflammation in Non-Alcoholic Steatohepatic Mouse Model / H. Li, L. Chen, Q. Wang [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 12. – No APR. – P. 788558. – DOI 10.3389/fphar.2021.788558. – EDN FEPIYY.
27. Gut dysbiosis and small intestinal bacterial overgrowth as independent forms of gut microbiota disorders in cirrhosis / R. Maslennikov, V. Ivashkin, I. Efremova [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2022. – Vol. 28. – No 10. – P. 1067-1077. – DOI 10.3748/wjg.v28.i10.1067. – EDN AYMSGW.
28. Premkumar, M. Cytokine storm of covid-19 and its impact on patients with and without chronic liver disease / M. Premkumar, C. K. Kedarisetty // *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. – 2021. – Vol. 9. – No 2. – P. 256-264. – DOI 10.14218/JCTH.2021.00055. – EDN EALGVP.
29. Moreno-Gonzalez, M. The role of the microbiome in liver cancer / M. Moreno-Gonzalez, N. Beraza // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13. – No 10. – DOI 10.3390/cancers13102330. – EDN HARUDH.
30. The multifactorial mechanisms of bacterial infection in decompensated cirrhosis / S. Van Der Merwe, S. Chokshi, C. Bernsmeier, A. Albillos // *Journal of Hepatology*. – 2021. – Vol. 75. – No Suppl. 1. – P. S82-S100. – DOI 10.1016/j.jhep.2020.11.029. – EDN SPPONE.
31. Dempsey, J. L. Microbiome Is a Functional Modifier of P450 Drug Metabolism / J. L. Dempsey, J. Y. Cui // *Current Pharmacology Reports*. – 2019. – Vol. 5. – No 6. – P. 481-490. – DOI 10.1007/s40495-019-00200-w. – EDN PUYENA.

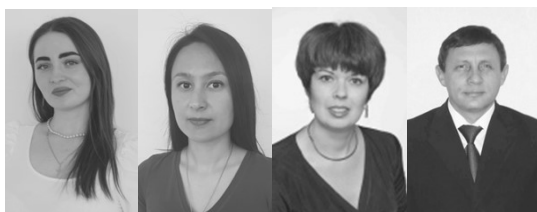
УДК 619:615

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.53

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ ПЛЕНКООБРАЗУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ГЛАЗНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНОК

М.М. Горохова студент, А.Н. Шулунова к. б. н., Н.В. Федота к. б. н., доцент, А.Н. Квочко д. б. н., профессор, профессор РАН ФГБОУ ВО "Ставропольский государственный аграрный университет" (г. Ставрополь)

Ключевые слова: глазные лекарственные пленки, пленкообразующие вещества, роговица, глазное яблоко, кератопатии, кератит. **Key words:** eye medicinal films, film-forming substances, cornea, eyeball, keratopathy, keratitis.



РЕФЕРАТ

При изготовлении глазных лекарственных пленок особое внимание стоит уделить выбору пленкообразующего вещества, поскольку от него зависит как форма будущей пленки, так и её лечебные свойства в целом. В данной статье приведен лабораторный анализ с сравнитель-

ной оценкой оптимальных концентраций двух пленкообразующих веществ поливиниловый спирт и желатин. Большинство из представленных пленкообразователей имеет ряд недостатков, таких как толщина, недостаточная прочность и эластичность, неоднородность, образование трещин и заломов. Одним из требований, предъявляемых к глазным лекарственным пленкам, является гладкость поверхности и отсутствие острых углов. Исходя из вышесказанного нами была поставлена цель исследования – провести лабораторное испытание пленкообразующих веществ для изготовления глазных лекарственных пленок. Анализ отечественных и зарубежных работ дал основание использовать в качестве основы для глазных лекарственных пленок поливиниловый спирт и желатин. В результате исследования нами были установлены оптимальные концентрации пленкообразующих веществ (поливиниловый спирт и желатин), удовлетворяющих имеющимся запросам. Оптимальной концентрацией раствора желатина явилось соотношение 1:7. Добавление пластификатора глицерина в желатин при изготовлении глазных лекарственных пленок обязательно. Оптимальной концентрацией раствора поливинилового спирта явилось соотношение 1:15. Пленки из обоих пленкообразователей при внесении в конъюнктивальный мешок не потеряли форму, не образовали трещин и разрывов. Раздражающего эффекта не наблюдали. Закладывание пленок не вызвало затруднений. Формы из желатина полностью растворились в глазах у кроликов, принимающих участие в эксперименте, в среднем за 40 минут, из поливинилового спирта – в среднем за 90 минут.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день проблема повышения эффективности лечения заболеваний роговицы с применением малоинва-

зивных методик и препаратов пролонгированного действия не теряет своей актуальности. Будущее медицинской и ветеринарной офтальмологии сегодня трудно

представить без глазных лекарственных пленок. Уже сейчас их используют при лечении различных по локализации и этиологии поражений структур переднего отрезка глаза. Основой этой относительно новой, но уже хорошо зарекомендовавшей себя на мировом фармацевтическом рынке, лекарственной формы, является пленкообразующее вещество, которое выполняет роль формообразующей основы и обуславливает пролонгированное поступление действующего вещества в пораженную область [5, 6, 8].

Ряд исследователей в качестве основы глазных лекарственных пленок использовали поливиниловый спирт, желатин, поливинилпирролидон, метилцеллюлозу и натрий карбоксиметилцеллюлозу [1, 2, 4, 7, 9, 10].

Большинство из представленных пленкообразователей имеет ряд недостатков, таких как толщина, недостаточная прочность и эластичность, неоднородность, образование трещин и заломов.

Одним из требований, предъявляемых к глазным лекарственным пленкам, является гладкость поверхности и отсутствие острых углов. Поэтому пленке необходимо придать округло-овальную форму, для того чтобы при её закладывании не повреждать наружные оболочки глазного яблока, затрудняя и осложняя тем самым процесс регенерации. В то же время, глазная лекарственная пленка должна быть эластичной, прочной, однородной, а также не иметь механических дефектов.

Исходя из вышесказанного нами была поставлена цель исследования – провести лабораторное испытание пленкообразующих веществ для изготовления глазных лекарственных пленок. Анализ отечественных и зарубежных работ дал основание использовать в качестве основы для глазных лекарственных пленок поливиниловый спирт и желатин. Для достижения цели были сформулированы задачи: 1. Подбор оптимальных концентраций растворов для получения пленок с заявленными требованиями. 2. Определение степени растворения основы для глазных лекарственных пленок в конъюнктивальном мешке лабораторных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в научно-диагностическом и лечебном ветеринарном центре и на кафедре физиологии, хирургии и акушерства ФГБОУ ВО "Ставропольский государственный аграрный университет". Объектом исследования являлись пленкообразующие вещества (желатин и поливиниловый спирт). В качестве лабораторных животных использованы кролики породы великан в количестве 10 голов.

Главной задачей лабораторного испытания желатина, в качестве пленкообразующего вещества, являлось опытное определение концентрации раствора и целесообразность добавления в него глицерина в качестве пластификатора. Для этого в десять пластиковых чашек Петри насыпали по 1 г желатина. В каждую чашку добавляли дистиллированную воду для достижения необходимой концентрации. Таким образом, мы получили по две чашки Петри с соотношением желатина и воды 1:4; 1:5; 1:6; 1:7 и 1:8. Затем оставили чашки и при комнатной температуре для пропитывания и набухания желатина. После этого все чашки Петри каждой концентрации поставили на твердотельный термостат (Biosan BioTDB-100) при температуре 70°C до полного растворения желатина, помешивая каждые 5 минут. На полное растворение желатина потребовалось 35 минут. Далее в одну из двух емкостей каждой концентрации добавили по 1 мл глицерина и тщательно перемешали. После полного растворения желатина из каждой чашки Петри микропипеткой (Thermo Scientific) по 0,5 мл делали по 10 капель на пластиковую ленту. Далее пленки ставили в холодильник при температуре +4°C на 60 минут (рис. 1). Поливиниловый спирт испытывали в соотношении с водой 1:10, 1:15 и 1:20. В три стеклянные пробирки насыпали по 0,25 г поливинилового спирта. Затем в каждую добавляли дистиллированную воду для достижения необходимого соотношения. Перед постановкой в твердотельный термостат пробирки с раствором поливинилового спирта оставляли на 12 часов при комнатной температуре. После



Рис. 1. Этапы лабораторного испытания желатина.

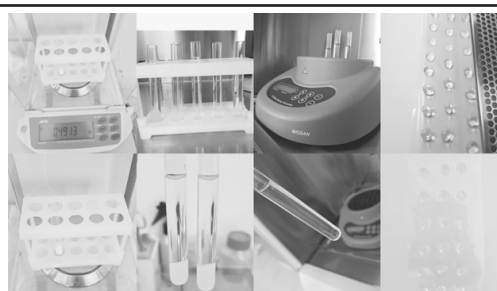


Рис. 2. Этапы лабораторного испытания поливинилового спирта.

набухания содержимого, емкости с пленкообразователем ставили в термостат при температуре 80-85°C на 60 минут. Во время нагревания пленкообразователь перемешивали каждые 5 минут, так как при изменении температуры на поверхности образуется тонкая пленка. После полного растворения поливинилового спирта, из каждой пробирки набирали микропипеткой по 0,5 мл и делали по 10 капель на пластиковую ленту. Затем высушивали в термостате при температуре 45°C до полного высыхания капель (рис. 2). Для определения степени растворения проводили закладывание пленок из желатина в соотношении 1:7 с добавлением глицерина и поливинилового спирта в соотношении 1:15 в конъюнктивальный мешок лабораторного животного (кролики n=10). Пленки из обоих пленкообразователей при внесении в конъюнктивальный мешок не потеряли форму, не образовали трещин и разрывов. Раздражающего эффекта в виде гиперемии конъюнктивы верхнего и нижнего века, склеры и третьего века, зуда области глазного яблока не наблюдали ни у одного животного (рис. 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ

После застывания пленки с соотношением желатина и воды 1:4 без глицерина получались твердые, толстые, очень плотные, не эластичные и мутные; с глицерином – толстые, плотные, более эластичные. Также стоит отметить, что определенные сложности возникали и при наборе желатина данной концентрации в микропипетку, 40% пленок получались с пузырьками и выбраковывались.

Пленки с соотношением желатина и воды 1:5 без глицерина твердые, толстые, не эластичные и мутные; с глицерином – плотные, твердые, со средней эластичностью, прозрачные с желтоватым оттенком, 50% пленок с пузырьками. Набор пленкообразователя в микропипетку также был значительно осложнен попаданием воздуха и, как следствие, образованием пузырей в пленках.

Пленки с соотношением желатина и воды 1:6 без глицерина достаточно тонкие и плотные, средней эластичности, но мутные; с глицерином – тонкие, плотные, эластичные, прозрачные, но 70% пленок образовывали пузыри. При наборе в пипетку также наблюдались некоторые сложности.

Пленки с соотношением желатина и воды 1:7 без глицерина плоские, тонкие, эластичные, но мутные; с глицерином – тонкие, плоские, эластичные, прозрачные, с желтоватым оттенком, хорошо держат форму. При наборе в пипетку и раскапывании пузырей не образуют.

Пленки с соотношением желатина и воды 1:8 без глицерина получились тонкие, плоские, эластичные, прозрачные, но не сохраняющие форму и растекающиеся; с глицерином – тонкие, плоские, эластичные, прозрачные, с желтоватым оттенком, но также не держали форму.

Пленки с соотношением поливинилового спирта и воды 1:10 получались плоские, тонкие, недостаточной эластичности, прозрачные, хорошо держали форму, без трещин и разрывов, бесцветные и прозрачные. Пленки с соотношением поливи-



Рис. 3. Определение степени растворения изготовленных глазных лекарственных пленок

нилового спирта и воды 1:15 получались плоские, тонкие, эластичные, правильной округлой формой, без трещин и разрывов, бесцветные и прозрачные. Пленки с соотношением поливинилового спирта и воды 1:20 – плоские, тонкие, эластичные, без трещин и разрывов, бесцветные и прозрачные, но неправильной формы в связи с более жидкой консистенцией.

В результате лабораторного испытания пленкообразующих веществ нами были определены оптимальные составы растворов желатина и поливинилового спирта. Полученные результаты исследования необходимы для изготовления глазных лекарственных пленок, применяемых в терапии кератопатий различного генеза. Размещение пленок на поверхность роговицы не вызвало затруднений благодаря удобной форме и консистенции. При контакте с роговицей обе пленки плотно прилегали, края не заворачивались. Форма из желатина при взаимодействии со слезой несколько увеличивались в объеме, что не повлияло на её расположение в начале эксперимента. Толщина пленки из поливинилового спирта не изменилась с течением времени нахождения в конъюнктивальном мешке, однако было отмечено изменение формы краев, что также не сказалось на расположении. Формы из желатина полностью растворились в глазах у кроликов, принимающих участие в эксперименте, в среднем за 40 минут, из поливинилового спирта – в среднем за 90 минут. К окончанию эксперимента было

отмечена незначительная миграция остатков пленок к медиальному углу глаза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, мы доказали, что добавление пластификатора глицерина в желатин при изготовлении глазных лекарственных пленок обязательно. Самыми подходящими по всем критериям получились пленки с соотношением желатина 1:7.

Оптимальной концентрацией, при которой были соблюдены все требования, предъявляемые нами к поливинилового спирту как к пленкообразователю, явилось соотношение 1:15.

Скорость растворения основ пленок, содержащих поливинилового спирт была ниже, чем у форм из желатина. Это позволит обеспечить более пролонгированную экстракцию действующего вещества в конъюнктивальный мешок и длительное поддержание необходимой концентрации.

ВЫВОДЫ

1. Оптимальной концентрацией раствора желатина явилось соотношение 1:7. Добавление пластификатора глицерина в желатин при изготовлении глазных лекарственных пленок обязательно.

2. Оптимальной концентрацией раствора поливинилового спирта явилось соотношение 1:15.

3. Пленки из обоих пленкообразователей при внесении в конъюнктивальный мешок не потеряли форму, не образовали трещин и разрывов. Раздражающего эффекта не наблюдали. Закладывание пле-

нок не вызвало затруднений. Формы из желатина полностью растворились в глазах у 10 кроликов, принимающих участие в эксперименте, в среднем за 40 минут, из поливинилового спирта – в среднем за 90 минут.

LABORATORY TESTING OF FILM-FORMING SUBSTANCES FOR THE MANUFACTURE OF OPHTHALMIC MEDICINAL FILMS. M.M. Gorohova student, A.N. Shulunova Candidate of Biological Sciences, N.V. Fedota Candidate of Veterinary Sciences, assistant professor, A.N. Kvochko Doctor of Biological Sciences, professor Stavropol State Agrarian University

ABSTRACT

In the manufacture of ophthalmic medicinal films, special attention should be paid to the choice of a film-forming substance, since both the shape of the future film and its medicinal properties as a whole depend on it. This article provides a laboratory analysis with a comparative assessment of the optimal concentrations of two film-forming substances, polyvinyl alcohol and gelatin. Most of the presented film formers have a number of disadvantages, such as thickness, insufficient strength and elasticity, heterogeneity, formation of cracks and creases. One of the requirements for ophthalmic medicinal films is the smoothness of the surface and the absence of sharp corners. Based on the foregoing, we set the goal of the study - to conduct a laboratory test of film-forming substances for the manufacture of ophthalmic medicinal films. An analysis of domestic and foreign works gave reason to use polyvinyl alcohol and gelatin as the basis for ophthalmic medicinal films. As a result of the study, we have established the optimal concentrations of film-forming substances (polyvinyl alcohol and gelatin) that meet the existing requirements. The optimal concentration of the gelatin solution was the ratio of 1:7. The addition of the plasticizer glycerol to gelatin in the manufacture of ophthalmic medicinal films is mandatory. The optimal concentration of the solution of polyvinyl alcohol was the ratio of 1:15. Films from both film formers did not lose their shape, did not form cracks or breaks when introduced into the

conjunctival sac. No irritant effect was observed. Laying the films did not cause difficulties. Forms of gelatin completely dissolved in the eye in 40 minutes, of polyvinyl alcohol - in 90 minutes.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Азнабаев М.Т., Азаматова Г.А. Глазные лекарственные пленки с левофлоксацином в профилактике и лечении экспериментального бактериального эндофтальмита // Вестник Оренбургского государственного университета. 2011. № 14 (133). С. 24-26.
2. Азнабаев М.Т., Мударисова Р.Х., Бадькова Л.А., Гайсина Г.Я., Азаматова Г.А. Глазная лекарственная пленка с моксифлоксацином. Патент на изобретение RU 2581025 C1, 10.04.2016. Заявка № 2015104245/15 от 09.02.2015.
3. Бахрушина Е.О., Анурова М.Н., Демина Н.Б., Лапик И.В., Тураева А.Р., Краснюк И.И. Системы доставки офтальмологических препаратов (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. № 1. С. 57-66.
4. Габдрахманова А.Ф., Курбанов С.А., Мещерякова С.А., Кильдияров Ф.Х. Глазная лекарственная пленка с метилурацилом, обладающая ранозаживляющим эффектом. Патент на изобретение 2740924 C1, 21.01.2021. Заявка № 2020119996 от 09.06.2020.
5. Горохова М.М. Этиология и патогенез язвы роговицы у животных // Сборник студенческих научных трудов по материалам 86-й научно-практической конференции "Молодые аграрии Ставрополя". Ставрополь, 2021. С. 48-51.
6. Горохова М.М., Квочко А.Н., Шулунова А.Н., Федота Н.В. Обзор лекарственных препаратов для лечения конъюнктивитов у собак и кошек // Тенденции развития ветеринарной хирургии. материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО ВГАВМ. Витебск, 2021. С. 35-37.
7. Мударисова Р.Х., Бадькова Л.А., Азаматова Г.А., Исламова Р.М., Азнабаев М.Т. Полимерные глазные пленки на ос-

нове поливинилового спирта и арабиногалактана с левофлоксацином // Журнал прикладной химии. 2013. Т. 86. № 4. С. 650-654.

8. Федота Н.В., Шулунова А.Н., Квочко А.Н. Анализ распространенности заболеваний органа зрения у собак и кошек в г. Ставрополе // Тенденции развития ветеринарной хирургии. материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО ВГАВМ. Витебск, 2021. С. 136-137.

9. Шикова Ю.В., Лиходед В.А., Браженко А.В., Ишмакова З.Р., Гирфанов И.Ф. Раз-

работка состава и технологии глазных лекарственных пленок с экстрактом алоэ // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4. № 4. С. 48-54.

10. Ярмamedов Д.М., Медведева М.В., Липатов В.А., Затолокина М.А., Ярмamedова О.М. Фармакологическая эффективность комбинированных глазных лекарственных пленок на основе левофлоксацина и декспантенола, а также дексаметазона и декспантенола при лечении инфицированных ожогов роговицы // Научные результаты биомедицинских исследований. 2021. Т. 7. № 4. С. 388-399.

УДК: 612.128:636.2

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.58

СОСТОЯНИЕ ГЛЮКОНЕОГЕННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ НАНОКОМПОЗИТНОГО ВОДНОГО РАСТВОРА ФУЛЛЕРЕНА C₆₀

Алексеев А.А. – асп. 2 курса каф. морфологии, патологии животных и биологии, Пудовкин Н.А. – д.б.н., и.о. зав. каф. морфологии, патологии животных и биологии, Салаутин В.В. – д.в.н., профессор каф. морфологии, патологии животных и биологии, Клюкин С.Д. – к.в.н., ассистент каф. морфологии, патологии животных и биологии (ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ)

Ключевые слова: фуллерен, печень, глюконеогенная функция, глюкоза. **Key words:** fullerene, liver, gluconeogenic function, glucose.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 22-26-00019 «Разработка антиоксидантных и противоопухолевых ветеринарных препаратов на основе нанофуллеренов»



РЕФЕРАТ

Биосовместимые наночастицы привлекают внимание исследователей как средства коррекции широкого спектра заболеваний. Наноструктура на основе углерода – фуллерен C₆₀ - является одним из самых перспективных соединений. Однако применение соединений на основе наночастиц фуллеренов остается ограниченным. Поэтому разработка отечественных инновационных лекарственных соединений на основе фуллеренсодержащих наночастиц является одним из приоритетных направлений ветеринарной медицины. Исследования проводили в лаборатории кафедры «Морфология, патология животных и биология» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова». Первая группа служила контролем. Водный раствор фуллерена C₆₀ вводили в дозе 1 мл на (по ДВ

5 мг/кг) 1 кг массы тела (первая опытная группа животных). Так же вводили соединение на основе водного раствора фуллерена C60 включающего в себя водный раствор фуллерена C60, L-карнозина и янтарной кислоты в следующем соотношении компонентов, мас./мг: водный раствор фуллерена C60, стабилизированный плуронином F-127, – 5 мл (5 мг по ДВ), L-карнозин – 50 мг, янтарная кислота – 50 мг на 1 кг массы тела (вторая опытная группа). Изучаемые соединения вводили внутримышечно, однократно. Глицериновую нагрузку проводили через 24 часа после введения изучаемых соединений. Установлено, что водные растворы фуллерена C60 оказывают отчетливое влияние на обмен углевода в организме белых крыс. Первоначальный уровень глюкозы в крови у животных всех групп оказался примерно на одном уровне, однако самая высокая скорость глюконеогенеза установлена у животных первой опытной группы. Что же касается глюконеогенной функции печени, то у животных после введения водных растворов фуллерена C60 прирост новообразованной глюкозы и скорость глюконеогенеза значительно превышали контрольные значения. Полученные результаты свидетельствуют об изменении обмена глюкозы после введения водных растворов фуллеренов.

ВВЕДЕНИЕ

Печень обладает высоким уровнем метаболизма и выполняет множество функций в организме [1,2,4,6].

Гомеостаз глюкозы является основой поддержания биологических функций организма, которые в основном зависят от взаимодействия секреторной способности поджелудочной железы, выработки эндогенной глюкозы и утилизации периферических тканей. Для выполнения своей функции главную роль играет эндогенный выход глюкозы, который в основном происходит в печени. В условиях голодания печень принимает более 90% эндогенного выхода глюкозы через печеночный глюконеогенез, что имеет большое значение для поддержания гомеостаза глюкозы. Следовательно, печень играет центральную роль в контроле выработки глюкозы. Обмен глюкозы строго регулируется в организме для обеспечения энергетических потребностей жизненно важных функций. Печень играет важную роль в контроле гомеостаза глюкозы, контролируя различные пути метаболизма глюкозы, включая гликогенез, гликогенолиз, гликолиз и глюконеогенез. Как острая, так и хроническая регуляция ферментов, участвующих в метаболических путях, необходима для правильного функционирования этих сложных переплетенных систем. Аллостерический контроль с помощью различных промежуточных продуктов метаболизма, а также посттрансляционные модификации этих мета-

болических ферментов составляют острый контроль этих метаболических путей, и контролируемая экспрессия генов, кодирующих эти ферменты, имеет решающее значение для обеспечения долгосрочной регуляции этих метаболических путей. В частности, показано, что несколько ключевых факторов транскрипции участвуют в контроле метаболизма глюкозы, включая гликолиз и глюконеогенез в печени [7].

Биосовместимые наночастицы привлекают внимание исследователей как средства коррекции широкого спектра заболеваний. К ним относятся, в частности, наночастицы на основе металлов и их оксиды, липосомы и мицеллы, которые в сочетании с антифибротическими агентами (цисплатин, доксорубин и куркумин) способны доставлять их в печень. Наноструктура на основе углерода – фуллерен C60 - является одним из самых перспективных соединений [3].

Однако применение соединений на основе наночастиц фуллеренов остается ограниченным. Поэтому разработка отечественных инновационных лекарственных соединений на основе фуллеренсодержащих наночастиц является одним из приоритетных направлений ветеринарной медицины.

Целью работы – явилось изучение изменений глюконеогенной функции печени у лабораторных животных под действием водных растворов фуллерена C60.

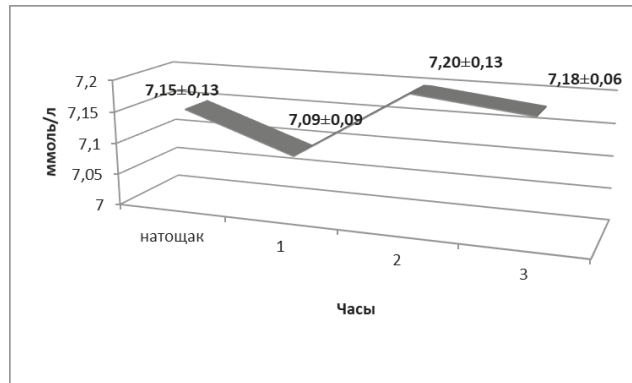


Рис. 1 Изменение содержания глюкозы в крови белых крыс после нагрузки глицерином (контрольная группа)

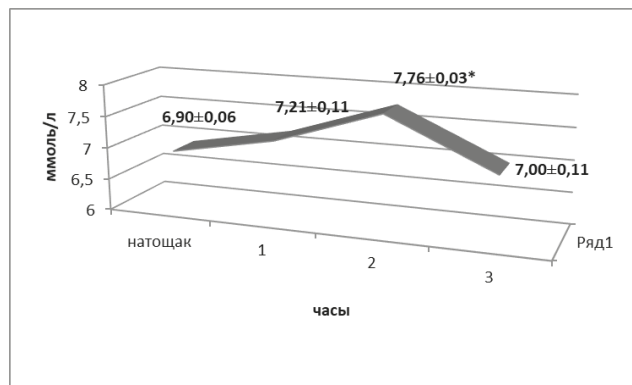


Рис. 2 Изменение содержания глюкозы в крови белых крыс после нагрузки глицерином (1 опытная группа животных)

Примечание: достоверность различий относительно натощак: * – $p \leq 0,05$

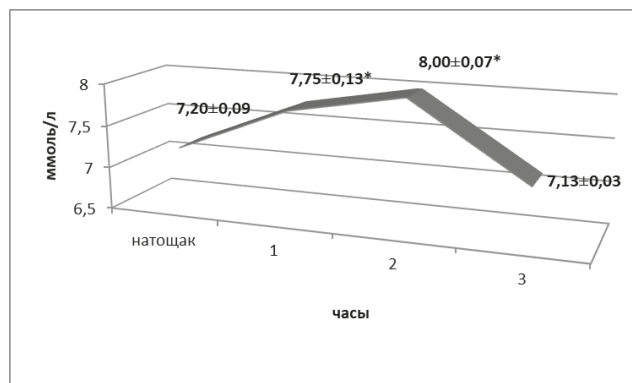


Рис. 3 Изменение содержания глюкозы в крови белых крыс после нагрузки глицерином (2 опытная группа животных)

Примечание: достоверность различий относительно натощак: * – $p \leq 0,05$

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в лаборатории кафедры «Морфология, патология животных и биология» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова».

Для исследований были сформированы 3 группы (контрольная и две опытных) белых крыс линии Wistar, массой тела 180 – 200 г, возрастом 3 мес. Животных подбирали в группы по принципу аналогов по 6 в каждой.

Контрольная группа состояла из интактных животных. Первой опытной группе животных вводили водный раствор фуллерена C60 в дозе 1 мл на (по ДВ 5 мг/кг) 1 кг массы тела. Второй опытной группе вводили соединение на основе водного раствора фуллерена C60 включающего в себя водный раствор фуллерена C60, L-карнозина и янтарной кислоты в следующем соотношении компонентов, мас./мг: водный раствор фуллерена C60, стабилизированный плуронином F-127, – 5 мл (5 мг по ДВ), L-карнозин – 50 мг, янтарная кислота – 50 мг на 1 кг массы тела. Изучаемые соединения вводили внутримышечно, однократно. Глицериновую нагрузку проводили через 24 часа после введения изучаемых соединений.

Определение биохимических показателей на анализаторе IDEXX Catalist (США).

Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке на персональном компьютере с использованием стандартной программы вариационной статистики Microsoft Excel. Для оценки значимости различий использовали коэффициент Стьюдента, при критическом уровне значимости 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Печень и почки считаются единственными органами, способными выделять эндогенную глюкозу, потому что являются единственными тканями, которые синтезируют глюкозо-6-фосфатазу, фермент, катализирующий последнюю ферментную стадию, общую для гликогенолиза и глюконеогенеза. Установлено, что активность глюкозо-6-фосфатазы, обнаружен-

ная в большинстве тканей, за исключением печени и почек, обусловлена неспецифической активностью фосфатазы [5].

Следовательно, идентификация молекулярных механизмов, регулирующих глюконеогенез в печени, имеет решающее значение для разработки улучшенных терапевтических стратегий лечения различных заболеваний.

Первым этапом наших исследований было определение глюкозы натощак в крови белых крыс. Результаты исследований представлены на рисунках.

Анализируя результаты рисунка 1 установлено, что достоверных различий в уровне глюкозы в крови контрольных животных не установлено. После введения глицерина животным первой опытной группы установлено постепенное повышение уровня глюкозы в крови на 1 и час на 4,5% и 12,5% соответственно, относительно контроля (рис.2). На 3 час концентрация глюкозы возвращается к уровню контрольных животных.

Исходное содержание глюкозы в крови у животных второй опытной группы составило $7,20 \pm 0,09$ ммоль/л, на первый час изучаемый показатель вырос до $7,75 \pm 0,13$ ммоль/л, что на 7,6% выше исходного уровня (рис.3). На второй час концентрация глюкозы выросла на 11,1% ($8,00 \pm 0,07$ ммоль/л) относительно исходного уровня. На третий час, искомый показатель понизился до первоначального уровня (рис.3).

Далее были рассчитаны показатели, характеризующие глюконеогенез. Полученные данные представлены на рисунке 4.

Установлено, что прирост новообразованной глюкозы у животных после введения водных растворов фуллерена C60 увеличивался. Прирост новообразованной глюкозы у животных опытных групп составил $0,96 \pm 0,09$ ммоль/л и $0,73 \pm 0,06$ ммоль/л, что выше 2 и 1,5 раза, соответственно, по сравнению с контрольными животными ($0,50 \pm 0,08$ ммоль/л).

Установлено, что глюкоза функционирует как основное «топливо» для активных тканей, таких как мозг и клетки крови млекопитающих. Печень играет реша-

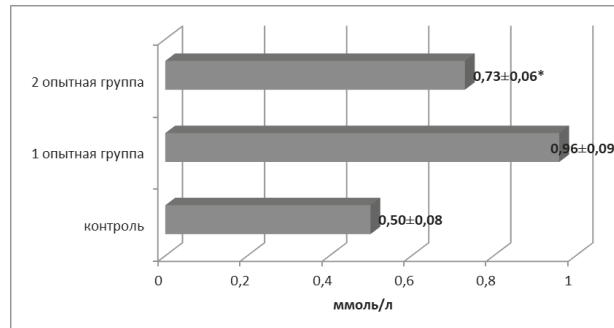


Рис. 4 Расчётные показатели прироста новообразованной глюкозы после введения водных растворов фуллерена C₆₀ (ммоль/л)

Примечание: достоверность различий относительно контроля: * – $p \leq 0,05$

ющую роль в поддержании гомеостаза глюкозы, поскольку она является основным органом для хранения глюкозы в форме гликогена, а также для выработки эндогенной глюкозы путем глюконеогенеза.

Близко к этим данным по смыслу находится и скорость глюконеогенеза. Этот показатель повысился у животных опытных групп в 2 и 1,5 раза по сравнению с контрольным уровнем. Возможно, это связано с особенностями фармакокинетики водных растворов фуллерена в организме белых крыс, а также продуктами распада фуллеренов, которые препятствуют проникновению глюкозы в периферические ткани.

Скорость глюконеогенеза определяется как доступность глюконеогенных субстратов, которые контролируют ключевые этапы глюконеогенеза. Регулирование глюконеогенеза происходит на нескольких уровнях, таких как секреция гормонов, транскрипция генов и посттрансляционная модификация. В ответ на стимуляцию внешних факторов стимулируются или подавляются гормональные сигналы, которые, в свою очередь, модулируют глюконеогенные пути, регулируют экспрессию генов и продукцию глюкозы [8].

ВЫВОДЫ

Таким образом, анализируя полученные гликемические кривые установлено, что водные растворы фуллерена C₆₀ оказывают отчетливое влияние на обмен углеводов в организме белых крыс. Первоначальный

уровень глюкозы в крови у животных всех групп оказался примерно на одном уровне, однако самая высокая скорость глюконеогенеза установлена у животных 1 группы. Что же касается глюконеогенной функции печени, то у животных после введения водных растворов фуллерена C₆₀ прирост новообразованной глюкозы и скорость глюконеогенеза значительно превышали контрольные значения. Полученные результаты свидетельствуют об изменении уровня глюкозы после введения водных растворов фуллеренов.

THE STATE OF GLUCONEOGENIC LIVER FUNCTION OF WHITE RATS UNDER THE INFLUENCE OF A NANOCOMPOSITE AQUEOUS SOLUTION OF FULLERENE C₆₀ Alekseev A.A. - asp. 2 courses of the Department of Morphology, Pathology of animals and Biology, Pudovkin N.A. - d.b.n., Acting Head of the Department of Morphology, Pathology of Animals and Biology, Salautin V.V. - d.v.n., Professor of the Department of Morphology, Pathology of Animals and Biology, Klyukin S.D. - Ph.D., assistant of the Department of Morphology, Pathology of animals and Biology (Saratov State University)

ABSTRACT

Biocompatible nanoparticles attract the attention of researchers as a means of correcting a wide range of diseases. The carbon-based nanostructure, fullerene C₆₀, is one of the most promising compounds. However,

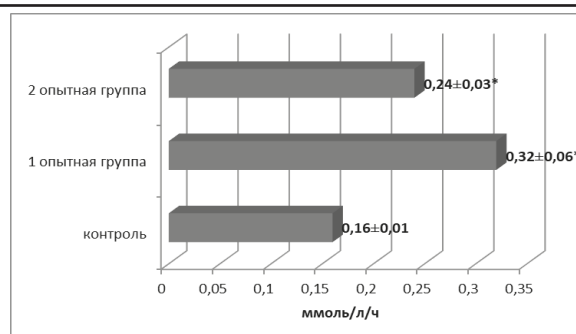


Рис. 5 Расчётные показатели скорости глюконеогенеза после введения водных растворов фуллерена C₆₀ (ммоль/л/ч)

Примечание: достоверность различий относительно контроля: * – $p \leq 0,05$

the use of compounds based on fullerene nanoparticles remains limited. Therefore, the development of domestic innovative medicinal compounds based on fullerene-containing nanoparticles is one of the priority areas of veterinary medicine. The research was carried out in the laboratory of the Department of "Morphology, Pathology of Animals and Biology" of the Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. The first group served as a control. An aqueous solution of fullerene C₆₀ was administered at a dose of 1 ml per (DV 5 mg / kg) 1 kg of body weight (group 2 animals). A compound based on an aqueous solution of fullerene C₆₀ was also introduced, including an aqueous solution of fullerene C₆₀, L-carnosine and succinic acid in the following ratio of components, wt. / mg: an aqueous solution of fullerene C₆₀ stabilized with pluronic F-127 – 5 ml (5 mg by DV), L-carnosine - 50 mg, succinic acid - 50 mg per 1 kg of body weight (group 3). The studied compounds were administered intramuscularly, once. Glycerin loading was carried out 24 hours after the introduction of the studied compounds. It was found that aqueous solutions of fullerene C₆₀ have a distinct effect on carbohydrate metabolism in the body of white rats. The initial blood glucose level in animals of all groups turned out to be approximately at the same level, but the highest rate of gluconeogenesis was found in animals of group 2. As for the gluconeogenic function of the liver, in animals after the introduction of aqueous solutions of fuller-

ene C₆₀, the increase in newly formed glucose and the rate of gluconeogenesis significantly exceeded the control values. The results obtained indicate a failure in glucose metabolism after the introduction of aqueous solutions of fullerenes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрейцев, М.З. Изменение белкового, азотистого обменов и других биохимических показателей при гепатозе у коров / М.З. Андрейцев // Вестник АГАУ. – 2003. – №1. – С 145.
2. Зирук, И.В. Изучение влияния хелатов на морфометрию гепатоцитов подсвинков /И.В. Зирук // Иппология и ветеринария. – 2019. – №3(33). – С. 112-116.
3. Пиотровский, Л.Б. Фуллерены в биологии / Л.Б. Пиотровский, О.И. Киселев. – СПб.: Росток, 2006. – 336 с.
4. Салаутин, В.В. Морфометрические характеристики гепатоцитов подсвинков при добавлении в рационы разных доз минералов / В.В. Салаутин, И.В. Зирук, А.В. Егунова, Д.В. Кривенко, М.Е. Копчекчи // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – №1. – С. 320-322.
5. Смутнев, П.В. Влияние химио- и пробиотических препаратов на белково-азотистый обмен и глюконеогенную функцию печени кроликов, больных эймериозом : дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19: утв. 30.06.09. - Саратов, 2009. 140 с.
6. Струговщиков, А.Ю. Изменение белково-азотистого обмена у здоровых и боль-

ных хламидиозом кошек под влиянием препарата Азитронит / А.Ю. Струговщиков, П.В. Смутнев, Н.А. Пудовкин, В.В. Салаутин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2020. – Т. 244. – №4. – С. 192-196.

7. Petersen, M.C. Regulation of hepatic glu-

cose metabolism in health and disease / M.C. Petersen, D.F. Vatner, G.I. Shulman // Nat Rev Endocrinol. – 2017. – V. 13. – P. 572–587. doi: 10.1038/nrendo.2017.80

8. Pilkis, S.J. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis / S.J. Pilkis, D.K. Graner // Annu Rev Physiol. –1992 – V.54. – P.885–909. doi: 10.1146/annurev.ph.54.030192.004321

УДК 615.33:619:636.5.034

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.64

ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИБАКТЕРИОЗЕ ЦЫПЛЯТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЗАРАЖАЮЩЕЙ ДОЗЫ

1, 2Мазур А.Д.- млад. науч.сотр., 1Скворцов В.Н.- д. в. н., руководитель филиала, 1Юрин Д.В.- к. в. н., стар. науч. сотр., 1Горбанёва А.С.- млад.науч.сотр.

1Белгородский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН» 2ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет им. В.Я. Горина»

Ключевые слова: колибактериоз, цыплята, экспериментальная инфекция, фторхинолоны, левофлоксацин, заражающая доза, лечебно-профилактическая эффективность. **Key words:** colibacillosis, chickens, experimental infection, fluoroquinolones, levofloxacin, infecting dose, therapeutic and prophylactic effectiveness.



РЕФЕРАТ

Целью работы являлось изучение лечебно-профилактической эффективности левофлоксацина при экспериментальном заражении цыплят различными заражающими дозами *Escherichia coli*: 1 DLM и 4 DLM (минимальная летальная доза). Проведено два опыта на цыплятах кросса Хайсекс Браун в возрасте двух суток. В первом опыте находилось 6 групп цыплят по 25 голов в каждой. Препарат назначали в свободном доступе с питьевой водой за сутки до заражения. Цыплятам 1-4 групп выпаивали левофлоксацин в дозах 50, 100, 200 и 300 мг/л воды в течение 5 дней. Пятая группа цыплят служила контролем, шестая являлась интактной. Заражение проводили *E. coli* в концентрации 150 млн. микробных тел / 0,5 мл (1 DLM) внутрибрюшинным способом. Второй опыт провели аналогично первому, однако заражающая доза была увеличена в 4 раза (4 DLM). Назначение препарата в дозе 300 мг/л воды и в первом опыте при заражении 1 DLM, и во втором опыте (заражающая доза – 4 DLM), показало одинаковый высокий лечебно-профилактический эффект – 96 %. Применение левофлоксацина в дозе 200 мг/л воды в первом опыте показало 100 % эффективность. Во втором опыте использование препарата в той же дозе способствовало выживанию 88 % заражённых цыплят. При употреблении лекарственного средства в концентрации 100 мг/л воды видна достоверная разница полученных результатов. Так, в первом опыте выжило 88 % цыплят. Во втором опыте с увеличением заражающей дозы до 4 MLD выжило всего лишь 52 % цыплят. Назначение левофлоксацина в концентрации 50 мг/л воды не оказывало существенного терапевтического эффекта.

ВВЕДЕНИЕ

Колибактериоз – зооантропонозная бактериальная септическая болезнь домашних и диких птиц, характеризующаяся дистрофическими и некротическими изменениями во внутренних органах, полисерозитами, снижением продуктивности, иммунологической реактивности и сопровождающаяся высокой смертностью [2].

Для лечения и профилактики колибактериоза птиц используется широкий спектр антимикробных препаратов, но, в связи с их длительным и бесконтрольным применением, эффективность многих препаратов снизилась, а нерациональное применение способствовало образованию резистентных популяций эшерихий [1, 3, 6].

В качестве этиотропных средств при лечении колибактериоза используется большое количество антибактериальных препаратов, ключевым критерием выбора которых является высокая чувствительность к ним возбудителя болезни.

Снижение эффективности антимикробной терапии, вызванное широким распространением резистентности среди бактериальных возбудителей является одной из основных причин, стимулирующей создание новых антибактериальных препаратов. Применение стандартных и достоверных методов оценки антимикробной активности и химиотерапевтического действия новых антимикробных препаратов на этапах доклинического изучения должно служить ограничительным механизмом, позволяющим отбирать и рекомендовать препараты для широкого применения в ветеринарии.

В конце XX века препараты группы фторхинолонов заняли одно из ведущих мест среди противомикробных химиотерапевтических средств. Широкий антимикробный спектр [7, 8], оптимальные фармакокинетические свойства [4] и низкая токсичность [9] определяют применение этих препаратов для лечения различных инфекций [5]. С момента появления в клинической практике препаратов этой группы было опубликовано много мате-

риалов, посвященных антимикробным свойствам фторхинолонов и особенностям их клинического применения, но тема остается актуальной для изучения и по сей день.

Целью нашей работы являлось изучение лечебно-профилактической эффективности левофлоксацина при экспериментальном заражении цыплят различными заражающими дозами *Escherichia coli*: 1 DLM и 4 DLM (минимальная летальная доза).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было проведено два опыта на цыплятах кросса Хайсекс Браун в возрасте двух суток. В первом опыте было использовано 175 цыплят, разделенных на 6 групп по 25 голов в каждой. Препарат назначали в свободном доступе с питьевой водой за сутки до заражения. Цыплятам 1-4 групп выпаивали левофлоксацин в дозах 50, 100, 200 и 300 мг/л воды в течение 5 дней. Пятая группа цыплят служила контролем (лечению не подвергалась, шестая являлась интактной (не подвергалась никаким экспериментальным воздействиям). Заражение проводили внутрибрюшинным способом суспензией из суточной культуры *E. coli* в концентрации 150 млн. микробных тел / 0,5 мл (1 DLM).

Второй опыт провели аналогично первому, однако заражающая доза была увеличена в 4 раза (4 DLM). Экспериментальную инфекцию воспроизводили путем внутрибрюшинного введения суспензии из суточной культуры *E. coli* в концентрации 600 млн. микробных тел / 0,5 мл (4 DLM).

Наблюдение за опытными цыплятами вели в течение двух недель.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов первого опыта (табл. 1) показывает, что наибольшая выживаемость была зафиксирована в третьей и четвертой группах (100 % и 96 %), в которых препарат назначали в концентрациях 200 мг/л и 300 мг/л воды.

Несколько меньшие результаты получены во второй группе цыплят, где препарат назначали в концентрации 100 мг/л

Таблица 1
Терапевтическая эффективность левофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят (заражающая доза 1 DLM)

№ гр.	Доза препарата	Кол-во цыплят	Выжило		Пало	
			Голов	%	Голов	%
1	50 мг/л	25	17	68	8	32
2	100 мг/л	25	22	88	3	12
3	200 мг/л	25	25	100	0	0
4	300 мг/л	25	24	96	1	4
5	Контрольная группа	25	4	16	21	84
6	Интактная группа	25	25	100	0	0

Таблица 2
Терапевтическая эффективность левофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят (заражающая доза 4 DLM)

№ гр.	Доза препарата	Кол-во цыплят	Выжило		Пало	
			Голов	%	Голов	%
1	50 мг/л	25	7	28	18	72
2	100 мг/л	25	13	52	12	48
3	200 мг/л	25	22	88	3	12
4	300 мг/л	25	24	96	1	4
5	Контроль	25	0	0	25	100
6	Интактная группа	25	25	100	0	0

воды. В этой группе выжило 88 % цыплят.

Самая низкая эффективность терапевтических мероприятий (68%) был получен в первой группе цыплят. В данной группе левофлоксацин применяли в концентрации 50 мг/л воды.

В контрольной группе к концу опыта в живых осталось только 4 цыпленка (16 %). В интактной группе заболевшей и павшей птицы не было.

Во втором опыте (табл. 2) при увеличении заражающей дозы *E. coli* до 600 млн. микробных тел/0,5 мл лучший результат левофлоксацин показал при его назначении в дозе 300 мг/л воды, где пал всего один цыпленок, т.е. выживаемость составила 96 %.

Назначение препарата в дозе 200 мг/л воды обусловило выживание 88 % цыплят. В подопытной группе птиц, которым выпаивали левофлоксацин в дозе 100 мг/л воды выживаемость была равной 52 %.

Самый низкий процент выживаемости (28 %) был отмечен в группе цыплят, которых лечили левофлоксацином в концентрации 50 мг/л воды.

К концу опыта в контрольной группе пали все цыплята. За время эксперимента в интактной группе симптомов болезни и падежа отмечено не было.

ВЫВОДЫ

По результатам двух опытов можно сделать следующее заключение – левофлоксацин эффективен при лечении цыплят, экспериментально зараженных *E. coli*, но успех его применения зависит от заражающей дозы возбудителя. Так, назначение препарата в дозе 300 мг/л воды и в первом опыте при заражении 1 DLM, и во втором опыте (заражающая доза – 4 DLM), показало одинаковый высокий лечебно-профилактический эффект – 96 %.

Назначение левофлоксацина в дозе 200 мг/л воды в первом опыте показало 100 %

эффективность. Во втором опыте применение препарата в той же дозе способствовало выживанию 88 % заражённых цыплят.

При использовании лекарственного средства в концентрации 100 мг/л воды видна достоверная разница полученных результатов. Так, в первом опыте выжило 88 % цыплят. Во втором опыте с увеличением заражающей дозы до 4 MLD выжило всего лишь 52 % цыплят.

Назначение левофлоксацина в концентрации 50 мг/л воды не оказывало существенного терапевтического эффекта. Так в первом опыте эффективность лечения составила 68 %. Во втором опыте при применении препарата в той же дозе за время наблюдений пало 72% цыплят.

EVALUATION OF THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC EFFECTIVENESS OF LEVOFLOXACIN IN EXPERIMENTAL COLIBACILLOSIS OF CHICKENS WITH REGARD TO INFECTING DOSE. 1, 2A.D. Mazur – junior research; 1V.N. Skvortsov – Doctor of Veterinary Sciences, Head of Branch; 1D.V. Yurin – Candidate of Veterinary Sciences, senior researcher; 1Gorbaneva A.S. – junior researcher, 1Belgorod Branch of FGBNU FNTs VIEV RAN (Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre – All Russia Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of Russian Academy of Sciences”); 2Belgorod State Agricultural University Named After V. Gorin.

ABSTRACT

The goal of the present research was to investigate therapeutic and prophylactic effectiveness of levofloxacin following experimental challenge of chickens with varying doses of *Escherichia coli* namely 1 minimum lethal dose (DLM) and 4 minimum lethal doses (DLM). We conducted two experiments on two-day-old Hisex Brown chickens. For the first experiment we used 6 groups of chicks (n = 25, in each group). The drug was administered via drinking water (with free access) 24 hours before the challenge. Chicks of Groups 1 to 4 received

levofloxacin via drinking water at concentrations 50 mg/L, 100 mg/L, 200 mg/L and 300 mg/L for 5 days. Group 5 was control, Group 6 was intact. The chicks were challenged with 1.5×10^8 *E. coli* bacterial cells per 0.5 mL (1 minimum lethal dose (DLM)) intraperitoneally. The second experiment was conducted similarly but the infecting dose was increased by 4 times (4 minimum lethal doses (DLM)).

Administration of levofloxacin at concentration 300 mg/L both in the first experiment, when the infecting dose was 1 minimum lethal dose, and in the second experiment, when the infecting dose was 4 minimum lethal doses, proved that the drug has the same high therapeutic and prophylactic effectiveness of 96 %. Administration of the drug at concentration 200 mg/L showed 100 % effectiveness in the first experiment. But in the second experiment levofloxacin at the same concentration ensured survival of only 88 % of the challenged chicks. When the drug was administered at concentration 100 mg/L we observed reliable change in indices. Accordingly in the first experiment 88 % of the chicks survived. In the second experiment, when the infecting dose increased to 4 minimum lethal doses, only 52 % of the chicks survived. Administration of levofloxacin at concentration 50 mg/L did not show significant therapeutic effect.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Андреева Н.Л. Изучение бактериальных инфекций на птицефабриках (Ленинградская обл.) / Н.Л. Андреева, М.Е. Дмитриева, А.А. Климов, Л.С. Фогель // Ветеринария. – 2004. – №5. – С. 14-16.
2. Бакулин В.А. Болезни птиц / В. А. Бакулин – Санкт-Петербург : Изд.: В. А. Бакулин, 2006. - 687 с.
3. Борисенкова А.Н. Бактериальные болезни птиц, вызываемые зоопатогенными и эпидемиологически опасными микроорганизмами / А.Н. Борисенкова, Т.Н. Рождественская, О.Б. Новикова // Матер. Всерос. Вет. Конгресса. Москва. – 2004. – С. 34-37.
4. Заикина Е.Н. Распределение ципрофлоксацина в организме цыплят после

- перорального введения / Е.Н. Заикина, В.Н. Скворцов, Д.В. Юрин // *Международный вестник ветеринарии*. – 2015. – №3. – С. 30-34.
5. Падейская Е.Н. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике / Е.Н. Падейская, В.Н. Яковлев. – М.: ЛОГАТА, 1998. – 352 с.
6. Рождественская Т.Н. Создание комплексной системы профилактики бактериальных болезней птиц в хозяйствах промышленного типа : Автореф. дисс. д-ра. вет. наук. – СПб. – 2011. – 54 с.
7. Скворцов В.Н. Терапия экспериментального сальмонеллёза цыплят антимикробными препаратами группы фторхинолонов / В.Н. Скворцов, Д.В. Юрин, В.В. Невзорова, А.Д. Мазур // *Международный вестник ветеринарии*. – 2020. – № 2. – С. 104 – 107.
8. Юрин Д.В. Острая токсичность норфлоксацина для цыплят // Д.В. Юрин, В.Н. Скворцов, А.А. Присный, А.В. Моисеева // *Международный вестник ветеринарии*. – 2019. – № 2. – С. 46-49.
9. Юрин Д.В. Чувствительность патогенной микрофлоры к норфлоксацину / Д.В. Юрин, А.А. Балбуцкая, В.Н. Скворцов, С.С. Белимова // *Международный вестник ветеринарии*. – 2019. – № 3. – С. 32-36.



УДК: 636.085.19

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.69

АНАЛИЗ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КОРМОВ МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Калужная Т.В. - к.вет.н., доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, Орлова
Д.А. - к.вет.н., доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной меди-
цины», г. Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: корма, токсичные элементы, свинец, мышьяк, кадмий, ртуть, селен, ветеринарно-санитарная экспертиза, атомно-абсорбционная спектрометрия. **Keywords:** feed, toxic elements, plumbum, arsenic, cadmium, mercury, selenium, veterinary and sanitary examination, atomic absorption spectrometry.



РЕФЕРАТ

В настоящее время одним из основных показателей, характеризующих безопасность кормов для продуктивных животных, является содержание в них токсичных элементов. Согласно требованиям МДУ № 123-4/281-8-87 «Временный максимально-допустимый уровень (МДУ) содержания некоторых химических элементов и госсипола в кормах для сельскохозяйственных животных и кормовых добавках» наибольшее ветеринарно-санитарное и токсикологическое значение представляют ртуть, кадмий, свинец, мышьяк, селен. Опасность этих веществ заключается в способности аккумулироваться в организме животного и вызывать различные патологии, поражая мочевыделительную, кроветворную, пищеварительную и нервную системы, в целом задерживают рост и развитие сельскохозяйственных животных, снижают резистентность, продуктивность и увеличивают риск обнаружения токсикантов в сельскохозяйственной продукции животного происхождения.

Цель исследования заключалась в ветеринарно-санитарной оценке безопасности кормов растительного происхождения по содержанию ртути, мышьяка, селена, свинца и кадмия методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

Материалами исследования служили 76 образцов различных кормов растительного происхождения для продуктивных животных: травяная мука, жмых льняной, овес, комбикорма растительные. Количество токсических элементов определяли, руководствуясь ГОСТ Р 55447-2013 и ГОСТ 31651-2012 с помощью атомно-абсорбционного спектрометра с зеемановской коррекцией неселективного поглощения «МГА-1000» (ГК «ЛЮМЭКС»).

В результате проведенных исследований установили, что во всех пробах кормов растительного происхождения для продуктивных животных количество содержания токсичных элементов не превышало максимально-допустимый уровень. Так, количество ртути в исследуемых пробах в среднем составило $0,55 \pm 0,04$ мкг/кг, кадмия – $0,86 \pm 0,04$

мкг/кг, свинца – $0,29 \pm 0,01$ мкг/кг, мышьяка – $0,24 \pm 0,01$ мкг/кг, селена – $0,44 \pm 0,02$ мкг/кг. Установленные концентрации токсичных элементов не превышали 1,0 мг/кг и составляли менее 1,5 % от максимально допустимого уровня, что соответствует требованиям к токсикологической безопасности кормов для продуктивных животных.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одним из основных показателей, характеризующих безопасность кормов для продуктивных животных, является содержание в нем токсичных элементов. Согласно требованиям МДУ № 123-4/281-8-87 «Временный максимально-допустимый уровень (МДУ) содержания некоторых химических элементов и госсипола в кормах для сельскохозяйственных животных и кормовых добавках» наибольшее ветеринарно-санитарное и токсикологическое значение из токсичных элементов представляют ртуть, кадмий, свинец, мышьяк, селен, поэтому контроль кормов в первую очередь организуется за их содержанием. Опасность этих веществ заключается в способности аккумулироваться в организме животного и вызывать различные патологии, поражая мочевыделительную, кроветворную, пищеварительную и нервную системы, а такие элементы как кадмий и свинец обладают способностью замещать другие микроэлементы, например, кальций [1; 3; 5]. Избыточное поступление токсичных элементов в организм животных ведет к задержке роста и развития, снижению резистентности и продуктивности и увеличивает риск обнаружения токсикантов в сельскохозяйственной продукции животного происхождения, что нарушает критерии продовольственной безопасности [2, 4, 5].

Содержание токсичных элементов в готовых кормах, комбикормах для продуктивных животных зависит от содержания их в растительном сырье, используемом для производства готовой кормовой продукции. Основным путем поступления этих веществ в растительное сырье – через почву и воду аграрных территорий. При этом в условиях интенсивной технологической нагрузки на агроферу источниками загрязнения сельхозугодий являются отходы предприятий тяжелой промышленности, тепло- и электростанций, по-

бочные продукты производств, полигоны твердых бытовых отходов, ядохимикаты, отходы транспорта [2; 4].

Цель исследования заключалась в ветеринарно-санитарной оценке безопасности кормов растительного происхождения по содержанию ртути, мышьяка, селена, свинца и кадмия методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». Материалами исследования служили образцы кормов растительного происхождения для продуктивных животных: травяная мука, жмых льняной, овес, комбикорма для свиней (n=76).

Для исследования отбирали среднюю пробу от каждого образца продукта, выделяя из объединенной пробы с помощью ручного совка согласно ГОСТ 13496.0-2016 «Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб (с Поправкой)».

Количество токсичных элементов определяли, руководствуясь ГОСТ Р 55447-2013 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение содержания кадмия, свинца, мышьяка, ртути, хрома, олова методом атомно-абсорбционной спектроскопии» и ГОСТ 31651-2012 «Средства лекарственные для животных, корма, кормовые добавки. Определение массовой доли селена методом атомно-абсорбционной спектрометрии (с Поправкой)» с помощью атомно-абсорбционного спектрометра с зеемановской коррекцией неселективного поглощения «МГА-1000» (ГК «ЛЮМЭКС») и полученные результаты сравнивали с максимально допустимым уровнем по МДУ № 123-4/281-8-87 «Временный максимально-допустимый уровень (МДУ) содержания некоторых химических элементов и гос-

Таблица 1

Содержание токсичных элементов в образцах кормов растительного происхождения, мкг/кг (M±m, n=76).

Наименование показателя	Травяная мука	Жмых льняной	Овес	Комбикорма
Ртуть (n=19)	0,56±0,04	0,62±0,03	0,55±0,03	0,46±0,04
Мышьяк (n=19)	0,31±0,02	0,24±0,01	0,21±0,01	0,20±0,01
Селен (n=19)	0,44±0,02	0,46±0,02	0,39±0,02	0,47±0,03
Свинец (n=19)	0,29±0,01	0,35±0,01	0,29±0,01	0,22±0,01
Кадмий (n=19)	0,90±0,04	0,78±0,03	0,93±0,05	0,83±0,02

сипола в кормах для сельскохозяйственных животных и кормовых добавках».

Минерализацию проб проводили в СВЧ-минерализаторе «МИНОТАВР®-2» (ГК «ЛЮМЭКС») с помощью пероксида водорода и азотной кислоты (ПУ 12-2009 «Методические указания по проведению разрушения органических веществ в пробах природных, питьевых, сточных вод, почв, донных отложений, пищевых продуктов с использованием микроволновой системы «Минотавр-2»).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований установили, что во всех пробах кормов растительного происхождения для продуктивных животных количество содержания токсичных элементов не превышало максимально-допустимый уровень. Так, количество ртути в исследуемых пробах в среднем составило 0,55±0,04 мкг/кг, наибольшие значения устанавливали в образцах льняного жмыха – 0,62±0,03 мкг/кг, наименьшие – в комбикормах для свиней – 0,46±0,04 мкг/кг. По содержанию кадмия среднее значение составило 0,86±0,04 мкг/кг, минимальные показатели определяли в образцах жмыха льняного 0,78±0,03 мкг/кг, максимальное значение – в овсе – 0,93±0,05 мкг/кг. Содержание свинца в кормовых продуктах в среднем составило 0,29±0,01 мкг/кг, минимум отмечали в комбикормах – 0,22±0,01 мкг/кг, максимум – в льняном

жмыхе – 0,35±0,01 мкг/кг. Количественное значение мышьяка в растительных кормах в среднем составляло 0,24±0,01 мкг/кг, при этом наименьшее значение определяли в комбикормах – 0,20±0,01 мкг/кг, наивысшее – в травяной муке – 0,31±0,02 мкг/кг. По содержанию селена среднее значение составило 0,44±0,02 мкг/кг, в различных видах корма существенной количественной динамики не наблюдалось: минимум приходился на овес – 0,39±0,02 мкг/кг, максимум отмечали в комбикормах – 0,47±0,03 мкг/кг (таблица 1).

Учитывая, что для различных видов кормов и кормового сырья установлены неодинаковые предельно допустимые значения, нами был проведен анализ полученных результатов относительно максимально-допустимого уровня, регламентированного МДУ № 123-4/281-8-87. Содержание токсичных элементов в травяной муке относительно МДУ составило: ртути - 1,12%, кадмия – 0,3%, свинца – 0,006%, мышьяка – 0,062%, селена – 0,044%. Данный показатель в пробах жмыха льняного, овса и комбикормов составил: ртуть – 1,24%; 0,55% и 0,46%; кадмий – 0,26%; 0,31% и 0,21%; свинец – 0,007%; 0,006% и 0,004%, мышьяк – 0,048%; 0,042% и 0,02%, селен – 0,046%; 0,078% и 0,047% соответственно (рис 1.).

Таким образом, анализируя результаты проведенных исследований, установ-

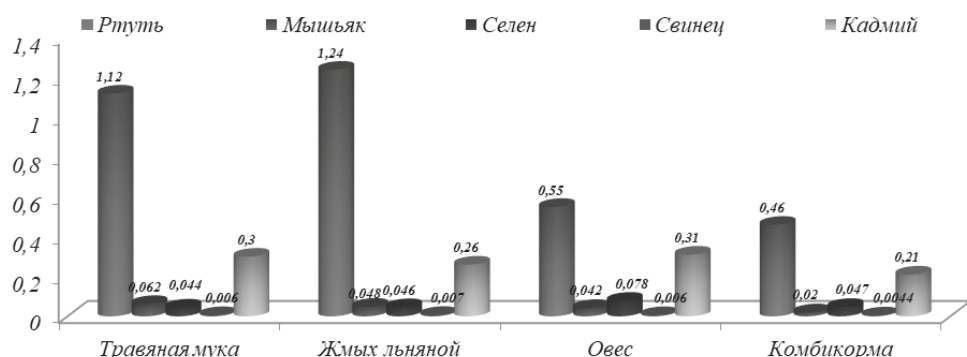


Рис. 1 – Содержание токсичных элементов в образцах кормов относительно МДУ, %

лено что, обнаруженные концентрации токсичных элементов не превышали 1,0 мг/кг и составляли менее 1,5 % от максимально допустимого уровня, что соответствует требованиям к токсикологической безопасности кормов для продуктивных животных.

ВЫВОДЫ

Определение токсичных элементов в кормах является неотъемлемой частью системы химико-токсикологического контроля кормов для продуктивных животных, особенно в условиях интенсивного развития животноводства и возрастающей антропогенной нагрузки. Регулярный мониторинг безопасности кормового сырья обеспечивает здоровье сельскохозяйственных животных и гарантирует получение безопасной животноводческой продукции.

ANALYSIS OF TOXICOLOGICAL SAFETY OF FEED BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY. Kaluzhnaya T.V. – PhD of Vet. Scie., Associate Professor; Orlova D.A. – PhD of Vet., Scie., Associate Professor (St. Petersburg State University of Veterinary Medicine).

ABSTRACT

Currently, one of the main indicators characterizing the safety of feed for productive animals is the content of toxic elements in them. According to the requirements of MDU No. 123-4 / 281-8-87 "Temporary maximum allowable level (MRL) of the con-

tent of certain chemical elements and gossypol in feed for farm animals and feed additives", mercury, cadmium, lead are of the highest veterinary, sanitary and toxicological significance, arsenic, selenium. The danger of these substances lies in the ability to accumulate in the body of an animal and cause various pathologies, affecting the urinary, hematopoietic, digestive and nervous systems, generally retard the growth and development of farm animals, reduce resistance, productivity and increase the risk of detecting toxicants in agricultural products of animal origin.

The purpose of the study was to assess the safety of plant foods for the content of mercury, arsenic, selenium, lead and cadmium using atomic absorption spectroscopy.

The study materials were 76 samples of various plant foods for productive animals: grass meal, linseed cake, oats, vegetable feed. The amount of toxic elements was determined according to GOST R 55447-2013 and GOST 31651-2012 using an MGA-1000 atomic absorption spectrometer with Zeeman correction of non-selective absorption (LUMEX Group of Companies).

As a result of the studies, it was found that in all samples of plant-derived feed for productive animals, the amount of toxic elements did not exceed the maximum allowable level. Thus, the amount of mercury in the studied samples averaged 0.55 ± 0.04 mg/kg, cadmium - 0.86 ± 0.04 mg/kg, lead -

0.29±0.01 mg/kg, arsenic - 0.24±0.01 mg/kg, selenium – 0.44±0.02 mg/kg. The established concentrations of toxic elements did not exceed 1.0 mg/kg and were less than 1.5% of the maximum allowable level, which meets the requirements for the toxicological safety of feed for productive animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ:

1. Атомно-эмиссионная спектрометрия и микроволновая минерализация как комплексный инструментальный подход для определения содержания свинца в растениях и продукции растениеводства / В. А. Литвинский, Е. А. Гришина, В. В. Носиков, Л. О. Сушкова // Плодородие. – 2018. – № 6(105). – С. 58-62. – DOI 10.25680/S19948603.2018.105.19.

2. Епифанова, И. Э. Поступление ртути, свинца и мышьяка с кормами и их накопление в организме крупного рогатого скота и овец / И. Э. Епифанова, В. Г. Епима-

хов // Бюллетень науки и практики. – 2019. – Т. 5. – № 3. – С. 173-186. – DOI 10.33619/2414-2948/40/23.

3. Исследование биологической аккумуляции тяжелых металлов / Е. И. Алексеева, Н. А. Лушников, Т. Л. Лещук, Н. В. Шипунова // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2015. – № 1. – С. 41-47.

4. Казанцева, Е. С. Циркуляция тяжелых металлов в пищевых цепях и способы определения экологического баланса содержания тяжелых металлов / Е. С. Казанцева, М. Н. Смирнов // Молодежь и наука. – 2019. – № 3. – С. 2-5.

5. Содержание тяжелых металлов в говядине в зависимости от биогеопроевнций Якутии / Л. П. Корякина, Н. Н. Григорьева, А. И. Павлова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2020. – № 7. – С. 25-28. – DOI 10.30917/АТТ-VK-1814-9588-2020-7-7.



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 619:616.07:618.19-006.55.636.8

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.74

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД В ДИАГНОСТИКЕ НОВООБРАЗОВАНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ДОМАШНИХ НЕПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ

Горинский В.И. – к.в.н., ассистент каф. морфологии, патологии животных и биологии,
Салаутин В.В. – д.в.н., профессор каф. морфологии, патологии животных и биологии,
Пудовкин Н.А. – д.б.н., и.о. зав. каф. морфологии, патологии животных и биологии,
Клюкин С.Д. – к.в.н., ассистент каф. морфологии, патологии животных и биологии, Са-
лаутина С.Е. – к.в.н., доцент каф. болезни животных и ВСЭ (ФГБОУ ВО Саратовский
ГАУ)

Ключевые слова: домашние животные, диагностика, молочная железа, новообразова-
ние, онкологическая патология. **Key words:** pets, diagnostics, mammary gland, neoplasms,
oncological pathology.



РЕФЕРАТ

Распространение онкологических заболеваний в настоящее время является одной из главных проблем, как в гуманитарной, так и в ветеринарной медицине. Несмотря на высокие достижения отечественных и зарубежных ученых современной ветеринарной медицины в области диагностики, лечения и профилактики онкологических процессов, количество онкобольных животных довольно велико и продолжает неуклонно расти. Поэтому совершенствование комплекса диагностических исследований при новообразованиях среди собак и кошек является одним из приоритетных направлений ветеринарной медицины. Исследования проводились на базе ветеринарной клиники центра красоты и здоровья животных «Зоостиль» ИП Горинский В.И. (г. Волгоград) и кафедре «Морфология, патология животных и биология» ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. В период с 2018 по 2021 год, в ветеринарной клинике Центра красоты и здоровья животных «Зоостиль» на приеме врачом онкологом обследовано 244 пациента, из них 127 собак и 117 кошек. Все животные принадлежали жителям города Волгограда. При поступлении животного в клинику на онкологический прием для исследования отбирали животных, имеющих любые визуальные признаки новообразования в проекции молочной железы. В результате проведенного физикального осмотра, на основании результатов лабораторных, рентгенологического и ультразвукового исследований, МР-томографии установлено, что в большей степени среди собак и кошек распространены опухоли молочной железы (ОМЖ). В популяции собак ОМЖ составили 33,8% (n=43) и у кошек 62,4% (n=73) всех случаев онкологической патологии. В зависимости от половой принадлежности неоплазии молочной железы наблюдали у сук - 100%, у кошек самки составили - 89%, а самцы - 11%. Полученные результаты свидетельствуют о том, что внедрение в ветеринарную онкологическую практику комплекса современных высокотехнологических методов диагностики, является ключевым элементом, существенно влияющим на перспективы оказания специализированной помощи и прогноз.

ВВЕДЕНИЕ

Внедрение в клиническую практику современных высокотехнологических методов диагностики, существенно повысило качество оказания ветеринарной помощи животным с различными патологиями. Диагностическая визуализация ранее недоступных структур, возможность поставить наиболее точный морфологический диагноз, качественная оценка соматического состояния и выявление сопутствующих заболеваний, все это является определяющим в выборе тактики ведения пациента. Онкологическая патология домашних непродуктивных животных занимает особое место в ряду заболеваний незаразной этиологии приводящих к смерти [3,8,18,19]. Эффективность комплекса диагностических мероприятий при неоплазиях, определяется не только своевременностью, но и спектром проводимых исследований [2,6,8,10,12,15]. Отдаленные результаты при терапии злокачественных новообразований, напрямую зависят от способности врача сопоставить полученные данные проведенных исследований.

Цель работы - анализ результатов комплекса диагностических исследований при новообразованиях молочной железы у собак и кошек.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические исследования проводили в ветеринарной клинике Центра красоты и здоровья животных «Зоостиль» ИП Горинский В.И. (г. Волгоград) и на кафедре морфологии, патологии животных и биологии ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. На специализированный онкологический прием, за период с 2018 по 2021 года, в ветеринарную клинику Центра красоты и здоровья животных «Зоостиль» поступило 244 пациента, из них 127 собак и 117 кошек. Все животные принадлежали жителям города Волгограда. При поступлении животного в клинику на онкологический прием для исследования отбирали животных имеющих любые визуальные признаки новообразования в проекции молочной железы.

Постановку предварительного клини-

ческого диагноза и оценку общего соматического состояния проводили с учетом данных анамнеза, физикального осмотра, результатов лабораторных, рентгенологического и ультразвукового исследований, магнитно-резонансной томографии (МРТ). Классификацию и стадирование проводили согласно «сTNM – классификации» (Owen,1980) и «Общей клинической классификации злокачественных опухолей по стадиям развития».

Рентгенографию осуществляли на ветеринарном рентген аппарате «Examion X-DR Static Classic». Ультразвуковые исследования производили на сканерах: Chison QBIT 9 NEW Matrix, при помощи датчиков – D6C15L, D7L40L и SonoScape A-6 Vet., с датчиками - C612, L745. Магнитно – резонансную томографию выполняли на МР - томографе Signa HDxt (General Electric) с напряженностью поля 1,5 Тесла.

Лабораторные исследования проводили на автоматическом гематологическом анализаторе «Mindray BC-2800» и полуавтоматическом биохимическом анализаторе «BioChem SA». Микроскопию окрашенных мазков крови проводили при помощи микроскопа «МИКМЕД – 5». Также определяли физические, химические свойства мочи и морфологический состав осадка мочи. Для определения биохимических показателей мочи применяли индикаторные тест - полоски «Уриполиан - XN». ПЦР диагностика на хронические вирусные инфекции у кошек (FeLV, FIV), осуществлялась в специализированной Клинико-диагностической лаборатории.

При необходимости, в сомнительных случаях, предварительно выполняли цитологическое исследование новообразования, с применением метода тонкоигольной биопсии (ТИБ) или тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ). Клеточный материал окрашивали по методу Паппенгейма. Микроскопию проводили при помощи микроскопа «МИКМЕД - 5».

При хирургическом методе лечения, для морфологической диагностики, про-

водили гистологическое исследование операционного материала. Определение морфологического типа неоплазии молочной железы проводили на основании «Международной гистологической классификации и номенклатуры опухолей домашних животных» ВОЗ [7,14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В структуре онкологических заболеваний у собак и кошек, в нашем исследовании, в большей степени выявлены опухоли молочной железы (ОМЖ). В популяции собак ОМЖ составили 33,85% (n=43) и у кошек 62,39% (n=73) всех случаев онкологической патологии.

В зависимости от половой принадлежности неоплазии молочной железы наблюдали у сук - 100%, у кошек самки составили – 89,04%, а самцы – 10,95%. Узловая форма новообразования молочной железы диагностирована у 93,02% собак и у 86,30% кошек. Воспалительная карцинома и инфильтративно - отечная форма, встречались у собак в 6,97% и у кошек в 13,69% случаев. Больше одного опухолевого узла выявлено у 37,20% собак и 38,35% кошек. Язвенно – некротический дефект на поверхности опухоли регистрировали в 1,72% случаев у собак и 13,69% у кошек. Деструкция ткани новообразования, на первичном приеме, была отмечена у 4,10% кошек. Среди сук ка-

стрированные животные составили 11,62%, беременность и роды, по анамнестическим данным, были у 10,95%. В популяции кошек – кастрированные животные составили 25,58%, беременность и роды были в 9,58% случаев, синтетические гормональные препараты для подавления половой охоты периодически применяли 36,98% животным. По результатам нашего исследования, у собак пик заболеваемости приходился на возрастную группу 8,5 - 9 лет ($8,90 \pm 4,51$), у кошек 11,5 - 12 лет ($11,69 \pm 0,54$).

Для определения типа кровотока опухолевой ткани применяли доплерографию: цветное картирование потока (рис.1) и энергетический доплер (рис.2). По характеру васкуляризации различают несколько типов сосудистого рисунка: Тип 1 - характеризуется отсутствием ультразвуковых признаков васкуляризации опухолевого узла; Тип 2 – регистрируется перинодулярный кровоток; Тип 3 – выявляется и перинодулярный и интранодулярный кровоток (смешанный); Тип 4 – характеризуется только интранодулярным кровотоком [1,2,4,9]. В медицине человека Тип 3 и Тип 4 васкуляризации, являются косвенным признаком злокачественности процесса. По результатам нашего исследования было выявлено, что

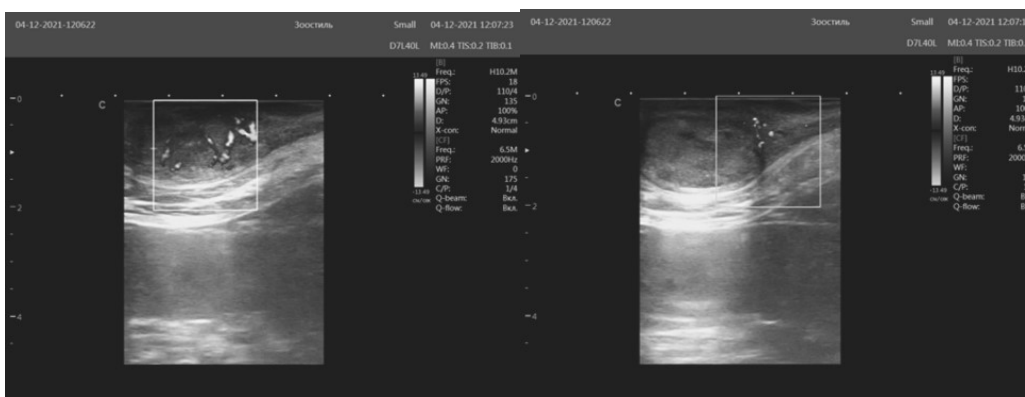


Рис. – 1 УЗИ новообразования молочной железы. Допплерография – цветное картирование потока (С). Васкуляризация - Тип 3 (смешанный кровоток). Собака, сука, порода хаски, возраст 7 лет 4 месяца. Морфологический диагноз: комбинированная (комплексная) карцинома молочной железы, G2

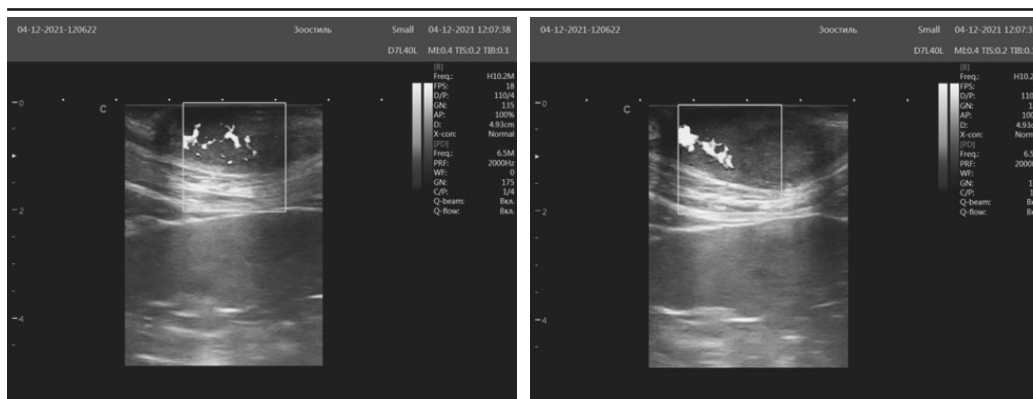


Рис. – 2 УЗИ новообразования молочной железы. Допплерография – энергетический доплер (CPA). Вазуляризация - Тип 3 (смешанный кровоток). Собака, сука, порода хаски, возраст 7 лет 4 месяца. Морфологический диагноз: комбинированная (комплексная) карцинома молочной железы, G2

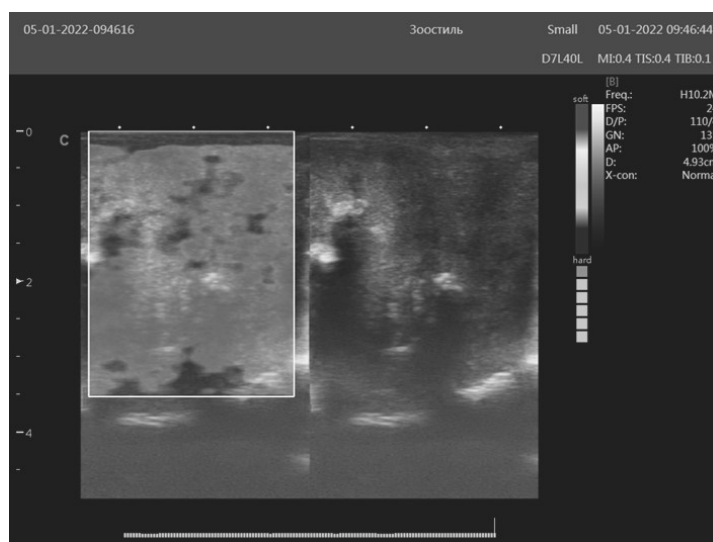


Рис.– 3 Соноэластография тканей опухоли и молочной железы. Собака, сука, метис, возраст 11 лет 10 месяцев. Морфологический диагноз: тубулярная аденокарцинома молочной железы, G2

у собак первый тип встречается в 4,65%, второй в 44,18 %, третий в 48,83% и четвертый в 2,32% случаев. У кошек второй тип определен в 8,21%, третий в 90,41% и четвертый 1,36% случаев. Для возможности дифференциации неопластического процесса, нами проводилась соноэластография «объема» и измененной молочной железы (рис.3). Ультразвуковое исследо-

вание молочной железы с применением метода эластографии, широко применяется в медицине человека для выявления злокачественных новообразований, отличающихся своей плотностью и жесткостью [5,11,13,16,17,20]. При раке молочной железы ткани обладают более высокой плотностью, поэтому при надавливании трансдуктором, уплотнение практи-

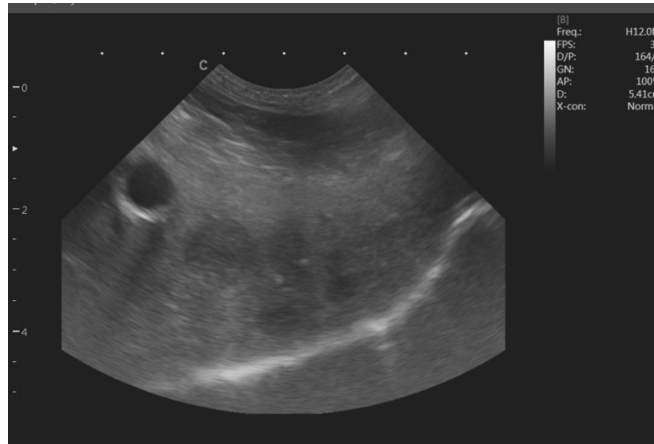


Рис.– 4 Ультразвуковая картина метастатического поражения паренхимы печени. Собака, сука, метис, 12 лет 5 месяцев

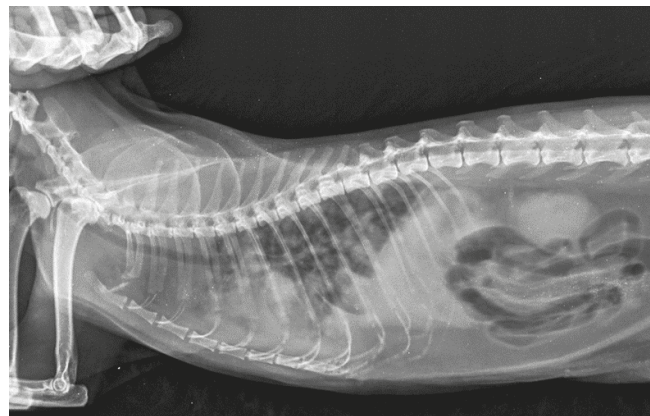


Рис.– 5 Рентгенография органов грудной полости в правой латеральной проекции. Отдаленные метастазы в легких. Кошка, беспородная, 14 лет

чески остается в своих границах, либо незначительно меняет форму. По результатам наших исследований, эластичность опухолевой ткани в 97,67% случаев у собак и 97,26% кошек, изменялась в пределах показателя Score – 1 (тип – 1). Отдаленные метастазы на первичном приеме были выявлены: у собак – в легких 6,97%, в печени 2,32% (рис.4); у кошек - в легких 8,21% (рис.5); в печени 8,21%; в селезенке 1,36%. Метастатический серозит отмечали у кошек в 5,47% случаев (рис.6,7). У всех исследуемых животных, на первичном приеме, проводили общий и биохимический анализ крови. Призна-

ков лейкопении, анемии и тромбоцитопении отмечено не было. Результаты представлены в таблицах 1 и 2. Биохимические показатели сыворотки крови находились в пределах видовых референсных значений. У кошек уровень креатинина ($176 \pm 30,26$; референсное значение 27-186 $\mu\text{mol/l}$), мочевины ($9,18 \pm 1,12$; референсное значение 3,6-12,9 mmol/l) и амилазы ($2136 \pm 212,09$; референсное значение 400-2500 U/L), определялись в верхних границах нормы. По результатам клинического анализа мочи, у кошек в 91,78 % случаев отмечено снижение относительной плотности (менее 1,030) и увеличение содержания белка ($\geq 1,0$ г/л).



Рис. – 6 МРТ органов грудной полости, прямая проекция. Метастатический серозит и отдаленные метастазы в легких. Кошка, беспородная, 15 лет

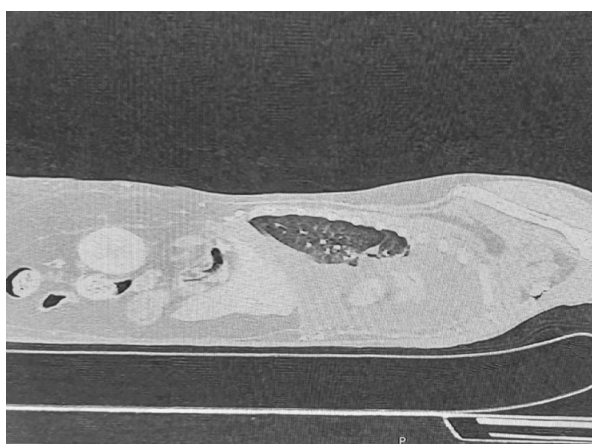


Рис. – 7 МРТ сагиттальный срез. Метастатический серозит и отдаленные метастазы в легких. Кошка, беспородная, 15 лет

По результатам ПЦР на носительство вируса лейкоза у кошек (FeLV), ДНК возбудителя обнаружено у двух животных, в возрасте до 23 месяцев, с последующим неблагоприятным прогнозом течения заболевания.

Цитоморфологическая диагностика на приеме рутинно не проводилась, исключение составили сомнительные случаи с локализацией новообразования в проекции молочной железы. Данный факт позволил поставить предварительный морфологический диагноз с точностью до 82%.

По результатам гистологического исследования операционного материала у

собак 48,83% случаев ОМЖ были представлены доброкачественным процессом, преимущественно комплексными аденомами с эктазией протоков молочной железы. Злокачественные новообразования диагностированы в 51,16% случаев и морфологически различались на протоковую, тубулярную, тубуло-папиллярную карциному и др. У двух сук предварительный гистологический диагноз - злокачественная веретеноклеточная опухоль в проекции молочной железы, при иммуногистохимическом исследовании был, опровергнут с заключением - злокачественная

Таблица 1
Гематологические показатели у собак с новообразованиями молочной железы

Показатель	Единицы измерения	Референсные значения	Результат
Лейкоциты	х 10 ⁹ /L	6,0-17,0	13,4±0,984
Гранулоциты	х 10 ⁹ /L	4,0-12,6	9,56±0,782
Гемоглобин	g/L	110-190	160,72±3,620
Тромбоциты	х 10 ⁹ /L	117-460	437,22±20,333

Таблица 2
Гематологические показатели у кошек с новообразованиями молочной железы

Показатель	Единицы измерения	Референсные значения	Результат
Лейкоциты	х 10 ⁹ /L	5,5-19,5	9,36±1,223
Гранулоциты	х 10 ⁹ /L	2,1-15,0	6,59±0,966
Гемоглобин	g/L	93-153	140,47±4,869
Тромбоциты	х 10 ⁹ /L	100-514	219,95±19,031

миоэпителиома молочной железы (рис.8). (а,б – результаты предварительного гистологического исследования: злокачественная веретенноклеточная опухоль и зрелая жировая ткань, без опухолевого роста; в – результаты иммуногистохимического исследования: большое количество митозов; г - пласты клеток образования с участками некроза; д - МСК (AE1& AE3), положительно окрашенные клетки расположены диффузно на периферии образования. Положительная окраска слабая, цитоплазматическая, редко мембранозная, представлена в около 5-12% клеток. Более глубокие участки образования окрашены отрицательно; е - S100(4C4.9), положительно окрашенные клетки расположены диффузно на периферии образования. Положительная окраска слабая, цитоплазматическая, редко ядерная, представлена в около 50% клеток. Более глубокие участки образования окрашены отрицательно; ж - Vimentin (V9), положительно окрашенные клетки расположены диффузно по всей площади образования. Положительная окраска умеренная, цитоплазматическая, представлена в около 80% клеток; з - рb3 7JUL, участки с положительно окрашенными клетками распределены неравномерно по всей площади образования кроме глубоких участков. Положительная окраска от слабой до умеренной, ядерная, представлена в 7- 16% клеток на разных

участках. Глубокие участки образования окрашены отрицательно; и - Calponin-1 (EP798Y), небольшое количество положительно окрашенных клеток).

В популяции кошек 91,78% неоплазий молочной железы составили новообразования злокачественного характера, преимущественно тубулярный (рис.9), тубуло-папиллярный, солидно-тубулярный рак, инвазивная простая и протоковая аденокарцинома молочной железы, с разной степенью дифференциации. (ткань состоит из эпителиальных клеток, уложенных в трубочки. Клетки опухоли полигональной формы, с умеренной эозинофильной цитоплазмой и округлыми резко полиморфными ядрами. Ядра гиперхромные, округлой формы, среднего и крупного размеров (атипичные ядра составляют до 50%), с зернистым хроматином и единичной центральной хорошо визуализируемой нуклеолой, в том числе макронуклеолой. Количество митозов в поле зрения в наиболее активных участках составляет от 2 до 5 (х400). Более 50% площади опухолей составляют центральные фокусы малиновых масс клеточного детрита).

Результаты гистологического исследования операционного материала определяли необходимость и объем адьювантной терапии.

ВЫВОДЫ

По результатам проведенных исследований, новообразования молочной желе-

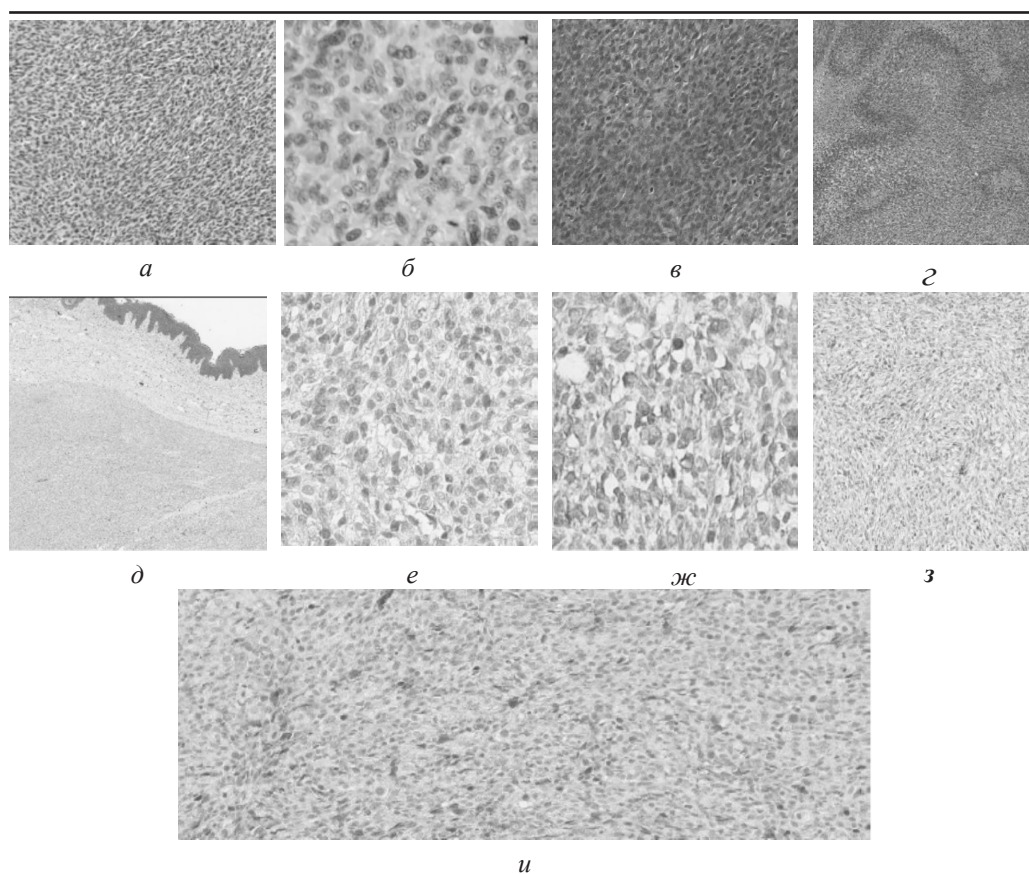


Рис. – 8 Злокачественная низкодифференцированная миоэпителиома молочной железы (окраска: гематоксилином и эозином, МСК, S100, виментин, p63, calponin-1). Сука, метис, 9 лет

зы в популяции собак составили треть, а в популяции кошек больше половины всех случаев опухолей. Практически все заболевшие животные самки. Узловая форма является преобладающей у обоих видов животных. Диффузная форма у кошек встречается чаще, чем у собак. Основной процент животных с неоплазиями молочной железы оказались интактными и примерно 37% кошек в анамнезе регулярно получали гормональные препараты для подавления половой активности. У собак пик заболеваемости приходился на возрастную группу 8,5 - 9 лет, у кошек 11,5 – 12 лет. По характеру васкуляризации опухолевой ткани, у собак перинодулярный (44,18 %), а также интра- и перинодуляр-

ный (48,83%) тип являются преобладающими. У кошек смешанный тип кровотока диагностировался в девяти случаях из десяти. Эластичность опухолевой ткани, по результатам соноэластографии, практически в 97% случаев и у собак, и у кошек, изменялась в пределах показателя Score – 1. Отдаленные метастазы на первичном приеме у собак были выявлены до 7% случаев, преимущественно в легких. У кошек в равной степени метастазы диагностировались в легких и паренхиме печени, до 8,21% случаев, реже в селезенке. Метастатический серозит отмечали у 5,47% кошек. Носительство вируса лейкоза кошек (FeLV) выявлено у двух молодых животных и ассоциировано с разви-

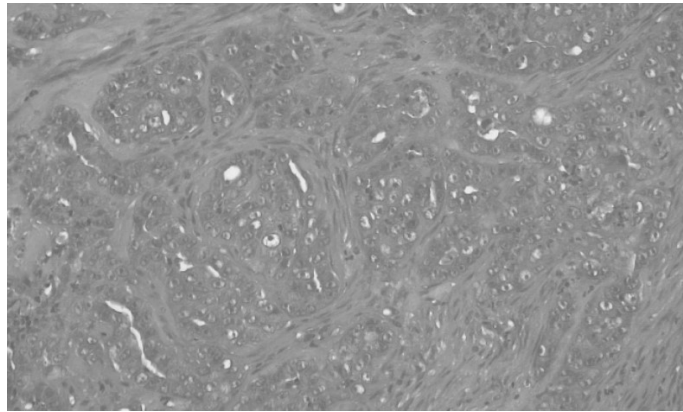


Рис. – 9 Инфильтративный тубулярный рак молочной железы низкой степени дифференцировки (окраска: гематоксилином и эозином). Кошка, метис, 11 лет

тием злокачественных новообразований молочной железы. По результатам гистологического исследования у собак меньше половины случаев опухолей представлены доброкачественным процессом (48,83%), а канцерогенез диагностирован у большего количества сук (51,16%). В популяции кошек рак молочной железы оказался преобладающим (91,78%).

Анализ полученных результатов убедительно показывает, что внедрение в ветеринарную онкологическую практику комплекса современных высокотехнологических методов диагностики, является ключевым элементом, существенно влияющим на перспективы оказания специализированной помощи и прогноз.

A COMPREHENSIVE APPROACH TO THE DIAGNOSIS OF BREAST NEOPLASMS IN DOMESTIC UNPRODUCTIVE ANIMALS. Gorinsky V.I. – Candidate of Biological Sciences, Assistant of the Department of Morphology, Pathology of Animals and Biology, Salautin V.V. – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Morphology, Pathology of Animals and Biology, Pudovkin N.A. – Doctor of Biological Sciences, Acting Head of the Department of Morphology, Pathology of Animals and Biology, Klyukin S.D. – Ph.D., Assistant of the Department of Morphology, Pathology of Animals and Biology, Salautina S.E. – Ph.D., Associate Professor of the Depart-

ment of Animal Diseases and VSE (Saratov State University)

ABSTRACT

The spread of oncological diseases is currently one of the main problems in both humanitarian and veterinary medicine. Despite the high achievements of domestic and foreign scientists of modern veterinary medicine in the field of diagnosis, treatment and prevention of oncological processes, the number of cancer-affected animals is quite large and continues to grow steadily. Therefore, improving the complex of diagnostic studies for neoplasms among dogs and cats is one of the priority areas of veterinary medicine. The research was conducted on the basis of the veterinary clinic of the Center for Animal Beauty and Health "Zoostyle" IP Gorinsky V.I. (Volgograd) and the Department of "Morphology, Pathology of Animals and Biology" of the Saratov State Agrarian University. In the period from 2018 to 2021, 244 patients, including 127 dogs and 117 cats, were examined by an oncologist at the veterinary clinic of the Zoostyle Center for Animal Beauty and Health.

All the animals belonged to residents of the city of Volgograd. When an animal was admitted to the clinic for an oncological appointment, animals with any visual signs of a neoplasm in the projection of the breast were selected for research. As a result of the physical examination, based on the results of laboratory, X-ray and ultrasound examina-

tions, MR tomography, it was found that breast tumors (OMJ) are more common among dogs and cats. In the population of dogs, OMH accounted for 33.8% (n=43) and 62.4% (n=73) of all cases of oncological pathology in cats. Depending on the gender, breast neoplasia was observed in females - 100%, in cats, females accounted for 89%, and males - 11%. The results obtained indicate that the introduction of a complex of modern high-tech diagnostic methods into veterinary oncology practice is a key element that significantly affects the prospects for providing specialized care and prognosis.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Вуфт, Л.О. Характеристика новообразований молочной железы методом УЗИ по Допплеру/ Л.О. Вуфт // Тез. докл. конф. Лучевая диагностика и лучевое лечение в медицине. М., 1991.- С.133.
2. Горинский, В. И. Ультразвуковая диагностика рака молочной железы у кошек / В.И. Горинский, В.В. Салаутин.- Саратов: ИЦ «Наука», 2017.- 58 с.
3. Добсон, Дж. Онкология собак и кошек / Дж. Добсон, Д. Ласцеллес; пер. с англ.; под ред. К. Лисицкой. М.: Аквариум, 2017.- 448 с.
4. Заболотская, Н. В. Ультразвуковое исследование в маммологии / Н. В. Заболотская. – М.: СТРОМ, 2019. - 208 с.
5. Зубарев, А. В. Эластография - новый метод поиска рака различных локализаций/ А.В. Зубарев, В.Е. Гажинова, Е.А. Хохлова, Е.А. Панфилова, С.О. Чуркина, Е.С. Лукьянова// Радиология-практика. 2008.- № 6. - с. 6-18.
6. Мазо, М. Л. Инвазивная лучевая диагностика рака молочной железы. Тонкоигольная биопсия или трепан-биопсия? / М.Л. Мазо, Н. И. Рожкова, С. П. Прокопенко, И. И. Бурдина, С. Б. Запирова, О. Э. Якобс // Медицинская визуализация. - 2015. - № 4 - С. 79-86.
7. Международная гистологическая классификация опухолей домашних животных. // Бюллетень Всемирной организации здравоохранения. 1977, № 2-3, Т. 53. - С.121. - 264.
8. Онкология мелких домашних животных / Д. В. Трофимцов [и др.]. М.: Научная Библиотека, 2017.- 574 с.
9. Трофимова, Е. Ю. Уточнение стадии (Т) у больных раком молочной железы (корреляция между размерами узлов, определяемых при клиническом осмотре, ультразвуковом и морфологическом исследованиях)/ Е.Ю. Трофимова, Г.А. Франк, Э.А. Лебедев [и др.] // Ультразвуковая и функциональная диагностика. - 2001. - № 3. - С. 10-15.
10. Шульман, И. Ф. Биопсия в ветеринарии. От момента взятия образцов до описания результатов/ И.Ф. Шульман. - М.: Издательство Аквариум, 2017. - 64 с.: ил.
11. Cho, N., Moon, W. K., Kim, H. Y. et al. Sonoelastographics train index for differentiation of benign and malignant non palpable breast masses // J Ultrasound Med - 2010. - 29. - P. 1-7.
12. Freeman, K. P. Self-Assessment Colour Review of Veterinary Cytology Dog, Cat, Horse and Cow. Copyright © 2007 Manson Publishing Ltd. - P. - 192.
13. Giuseppetti, G. M., Martegani A., Di Cioccio B., Baldassarre S. Elastosonography in the diagnosis of the nodular breast lesions: preliminary report //Radiol Med. 2005; 110: 69-76.
14. Misdorp W., Else R.W., Hellmen E. Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. // American Registry of Pathology. Armed Forces Institute of Pathology. Washington DC. 1999, V.7. - P. 11-15.
15. Muhlbauer, M. C., Kneller, S. K. Radiography of the Dog and Cat. Guide to Making and Interpreting Radiographs. This edition first published 2013 © 2013 by John Wiley & Sons, Inc. - P. - 497.
16. Scaperrotta, G., Ferranti C., Costa C. et al. Role of sonoelastography in non-palpable breast lesions // Eur. Radiol. - 2008. - V. 18. - P. 2381-2389.
17. Tardivon, A., Khoury C. E., Thibault F., Wyler A. Elastography of the breast: Prospective study of 122 lesions // Radiology. 2007; 88: 657-662.
18. Villalobos, A., Kaplan, L. Canine and Feline Geriatric Oncology: Honoring the Human-Animal Bond. First edition 2007 ©2007 Blackwell Publishing. - P. - 381.
19. Withrow & MacEwen's. Small Animal

Clinical Oncology. 6-TH EDITION. Copyright © 2020 by Elsevier, Inc. - P. - 842.
20. Zhi, H., Ou B., Luo B., Feng X., Wen Y., Yang H. Comparison of ultrasound elas-

tography, mammography, and sonography in the diagnosis of solid breast lesions// J. Ultrasound Med. 2007; 26: 807-815.

УДК 611.233.018.73:636.5.087.73
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.84

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ РЕСНИЧАТОГО ЭПИТЕЛИЯ БРОНХОВ ПРИ УВЕЛИЧЕНИИ ВИТАМИНА А В РАЦИОНЕ ИНДЮШКИ

Карпенко Л.Ю. - д.б.н., профессор, orcid.org/0000-0002-2781-5993; Полистовская П.А. – к.б.н., ассистент, orcid.org/0000-0003-1977-0913, Ажикина О.Ю. – студ.5 курса ФГБОУ ВО СПбГУВМ, Санкт – Петербургский государственный университет ветеринарной медицины

Ключевые слова: индюшка, мерцательный эпителий, витамин А, гиповитаминоз, индейководство. **Keywords:** turkey, ciliated epithelium, vitamin A, hypovitaminosis, turkey breeding.

РЕФЕРАТ

Исследование было направлено на изучение зависимости между концентрацией витамина А в рационе индюшки с изменением количества мерцательного эпителия в бронхах. Методы и методология: для увеличения дозировки витамина А применяли поливитаминный комплекс «Алфавит АДЗЕ» в подопытной группе в течение 10 дней с убоем птицы на 3, 5 и 10 дни исследования с изучением макро и микрокартины эпителия с подсчетом мерцательных клеток в пласте из расчета на 1000 клеток у каждой птицы. В дальнейшем было проведен анализ концентрации клеток мерцательного эпителия в подопытной и контрольной группах. Результаты исследования продемонстрировали не только увеличение числа клеток мерцательного эпителия в подопытной группе по сравнению с контрольной на 27,3% на момент окончания эксперимента, но также позволили отметить большую скорость процессов в период восстановления после респираторного заболевания индюшки. Научная новизна заключается в исследовании взаимосвязи концентрации витаминов в рационе птицы с количественным изменением эпителия дыхательной системы птицы, что, в свою очередь, необходимо для более широкого понимания причин возникновения и распространения заболеваний респираторного тракта.



ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным консалтингового агентства «АГРИФУД Стретеджис», общий объем производства мяса индейки в России в 2021 году во всех категориях хозяйств — в промышленных предприятиях, крестьянско-фермерских и ЛПХ — увеличился за год на 22,67% и составил 400133 тонн готовой продукции в убойном весе. [13]. Данные цифры являются рекордом отечественного производства и приближают российский индейководческий сектор к первому месту в Европе и второму в мире.

Исследования в области промышленного птицеводства являются довольно актуальным и перспективным направлением. [3,5,6,9,11]. Несмотря на ускоренный темп развития птицеводческой отрасли, ряд исследователей указывают на определенные проблемы, с которыми сталкиваются как промышленные холдинги, так и крестьянско-фермерские хозяйства. Так, одной, из наиболее частой причиной гибели индюшки при проведении патологоанатомического исследования, указываются патологии со стороны респираторного тракта. [7]. При выявлении этиологии патогенеза многие авторы сходятся во мнении наличия нескольких звеньев, формирующих причинно-следственные связи. Так, одним из связующих аспектов для развития многих заболеваний птицы Власова Е.Ю. называет гиповитаминозы. [4]. Опасность данного явления скрывается не только в проявлении ярких клинических признаков гиповитаминозов, но и в субклиническом течение недостатка витаминов, трудно диагностируемых и, в то же время, способствующих развитию инфекционных заболеваний. Именно поэтому исследование обмена веществ у птиц, а также определение их физиолого-биохимического статуса является приоритетной задачей поддержания здорового поголовья. [8,10,14,15].

Так, недостаток витамина А в рационе сельскохозяйственной птицы может стать причиной плоскоклеточной метаплазии респираторного эпителия, с замещением

реснитчатых клеток сквамозным эпителием, следствием чего является снижение выработки слизи. [1,2,12,16]. Данная патология практически не диагностируется в условиях промышленного комплекса при ежедневном осмотре поголовья птицы. Однако, слизистые оболочки респираторного тракта, защитная функция которых значительно снижается, нередко служат потенциальными воротами для инфекций.

Так, несбалансированные корма, и нарушения метаболизма кератинсодержащих продуктов становятся причинами воспаления респираторного тракта и массового падежа птицы на крупных предприятиях, одним, из которых является «Краснобор», располагающийся в Тульской области.

Отмечено, что за один цикл производства индюшки кросса «Биг-6» в среднем регистрируется 3 вспышки вялотекущих инфекционных процессов, сопровождающихся апатией, чиханием, снижением скорости набора массы тела и гибелью наиболее слабых особей. Период заболевания длится от 10 до 15 дней, с ежедневной гибелью 0,1% от всего поголовья, что в свою очередь при подсчетах дает потерю от 225 голов за цикл и, как следствие, недополученные 0,25 тонн продукции.

Цель исследования заключалась в оценке эффективности лечения воспаления дыхательных путей индюшки при применении поливитаминного препарата «Алфавит АДЗЕ» на основе анализа регенерации эпителиальных тканей слизистых бронхов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для постановки эксперимента были сформированы 2 группы самцов кросса Биг-6, каждая из которых насчитывала по 2500 голов, возраста 55 дней. Исследование длилось в течение 10 дней, с применением диагностического убоя 10 особей из каждой группы на 3, 5 и 10 день эксперимента с проведением патологоанатомического вскрытия и микроскопией полутонких срезов, окрашенных гематоксилином с эозином. Морфометрический анализ включал расчет частоты мерцатель-

ных клеток в пласте, с использованием программы ImageJ, на основании подсчета 1000 клеток у каждой птицы. Все количественные параметры обрабатывали методом вариационной статистики.

Птица содержалась в одинаковых условиях в течение 55 дней жизни, в одном зале. Основа рациона включала комбикорм ПК-11-1 (производство ЗАО «Новомосковский мельничный комбинат»), а также витаминно-минеральные комплексы, применяемые согласно установленной в ЗАО «Краснобор» схеме выращивания индюшки.

В течение 3-х дней до начала исследования птица ежедневно подвергалась осмотру ветеринарного врача с фиксированием клинических признаков заболевания респираторного тракта (чихание, серозные выделения из носовых ходов). За 3 дня в общей сложности пало 11 особей (1-й день – 3; 2-й – 5; 3-й – 4). При вскрытии павшей птицы данного зала у 7 из 11 трупов отмечались следующие патолого-анатомические признаки: серозный трахеит, катаральный бронхит, у 2 из 11 – катарально-фибринозный ринит, трахеит, фибринозная бронхопневмония, у 5 из 11, помимо ранее перечисленных патологий, также было зафиксировано фибринозное воспаление воздухоносных мешков, у 2 – фибринозный перикардит.

При микроскопии гистосрезов трахеи преобладали клетки слущенного эпителия, отмечалось увеличение нейтрофилов на 18%. При исследовании легких: в интерстиции – набухание коллагеновых волокон. Они утолщены и инфильтрированы серозно-фибринозно-клеточным экссудатом. Капилляры альвеол кровенаполнены, в просвете терминальных бронхов – экссудат в виде нитчатых масс.

Исходя из описания макро и микрокартины дыхательной системы павшей птицы, яркие клинические признаки гиповитаминоза А не были диагностированы. Однако основной целью исследования являлось проследить наличие или отсутствие корреляции между введением в рацион дополнительного источника витамина А и скоростью регенерации

эпителия дыхательных путей.

«Алфавит АДЗЕ» – современный лекарственный препарат ветеринарного назначения, применяемый в рационах сельскохозяйственных животных. Основные компоненты, приходящиеся на 1 мл раствора: ретинол – 100 000 МЕ, холекальциферол (вит. D3) – 5 000 МЕ, токоферол (вит. Е) – 20 мг. На основании факта введения комплекса «Алфавит АДЗЕ», были сформированы две группы. Подопытная группа получала полный кормовой рацион и витаминный препарат методом выпойки в дозировке 0,8 л / 1000 л воды в течение 10 дней. Контрольная группа придерживалась идентичного рациона, но в условиях отсутствия витаминной добавки. Кроме того, для лечения респираторного заболевания и купирования клинических признаков, обоим группам задавался препарат «Аэрофорте» в дозировке 200 мл на 1000 л. воды в течение 10 дней.

Убой проводился вечером 3, 5 и 10 дня со случайным подбором по 3 особи из каждой группы с последующим патолого-анатомическим исследованием трупов и взятием материала из крупных бронхов для изготовления гистосрезов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении убоя на 3 день исследования и при изучении патологоанатомической картины в подопытной группе наблюдались: серозный трахеит у 100% отобранных для убоя птиц, катаральный бронхит – у 70%. В контрольной группе при первом отборе наблюдали катарально-фибринозный ринит у 70% особей, фибринозную бронхопневмонию – у 30%, серозные аэроссакулиты у всех отобранных особей. При проведении диагностического убоя на 5 день, в подопытной группе сохранялось серозное воспаление трахеи – у 70% отобранных для убоя птиц. В контрольной группе катаральная бронхопневмония встречалась с частотой в 70%, фибринозная бронхопневмония – в 30%, серозный ринит – у 70% птиц, отобранных для убоя. К 10 дню в подопытной группе патологических изменений в дыхательной системе, диагностируемых

Таблица

Частота реснитчатых клеток в пласте респираторного эпителия индюшек

День иссл.	Контрольная группа, %	Подопытная группа, %
3-й	35,9±5,1	41,3±4,4*
5-й	39,4±6,3	47,8±8,7*
10-й	42,6±2,8	54,2±5,6*

* $p \leq 0,05$ по сравнению показателя подопытной группы с контрольной группой

при вскрытии, не наблюдалось. В контрольной группе фиксировались катаральный бронхит и серозный ринит – у 30% особей, отобранных для убоя. Результаты подсчета доли клеток реснитчатого эпителия бронхов индюшек представлены в таблице.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования, доля мерцательного эпителия в подопытной группе к 5 дню дачи препарата «Алфавит АД3Е» достоверно ($p \leq 0,05$), увеличилась на 15,74% по сравнению с показателем, полученным при отборе проб на 3 день исследования; к 10 дню исследования достоверно увеличилась на 13,39% по сравнению со вторым отбором и на 31,23% по сравнению с показателем, полученным при отборе проб на 3 день исследования. В то время, как в контрольной группе доля мерцательных клеток на 5 день исследования увеличилась всего лишь на 9,75% по сравнению с показателем, полученным при отборе проб на 3 день, а к 10 дню исследования на 8,12% по сравнению со вторым отбором, и на 18,66% по сравнению с показателем, полученным при отборе проб на 3 день исследования. Также при сравнении показателей подопытной группы с группой контроля, было отмечено повышение доли мерцательных клеток на 15,04 % на 3 день исследования, на 21,32% при втором отборе и 27,23% при анализе показателей, полученных при исследовании материала последнего отбора. Таким образом, респираторный эпителий бронхов развивался активнее с применением увеличенной дозировки ретинола, и к 10 дню восстановился до норм физиологического значения. Данное явление сопровождалось

ускоренным выздоровлением птицы с уменьшением числа общего падежа и снижением остроты проявления клинических признаков респираторного заболевания в поголовье подопытной группы.

ASSESSMENT OF REGENERATION OF THE BRONCHIAL CILIATED EPITHELIUM WITH AN INCREASE IN VITAMIN A CONTENT IN THE DIET TURKEY

Azhikina O.Yu., Karpenko L.Yu., Polistovskaya P.A.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

ABSTRACT

The study was aimed at studying the relationship between the concentration of vitamin A in the turkey diet and the change in the amount of ciliated epithelium in the bronchi. Methods and methodology: to increase the dosage of vitamin A, the “Alphabet AD3E” multivitamin complex was used in the experimental group for 10 days with the slaughter of poultry on days 3, 5 and 10 of the study with the study of macro and microcartins of the epithelium with the counting of ciliated epithelium cells per 1000 cells in each bird. Subsequently, the concentration of cells of the ciliated epithelium was analyzed in the experimental and control groups. The results of the study demonstrated not only an increase in the number of cells of the ciliated epithelium in the experimental group compared to the control group by 27.3% at the end of the experiment, but also allowed us to note a greater speed of processes during the recovery period after the respiratory disease of the turkey. The scientific novelty lies in the study of the relationship between the concentration of vitamins in the diet of poultry and the quan-

titative change in the epithelium of the respiratory system of poultry, which in turn is necessary for a broader understanding of the causes and spread of diseases of the respiratory tract.

ЛИТЕРАТУРА

1. M. Śmiałek, B. Tykałowski, T. Stenzel, A. Koncicki. Local immunity of the respiratory mucosal system in chickens and turkeys. // Polish Journal of Veterinary Sciences. 2011. №2. С.291-294.

2. Ramadan M Kandyel, Hebat Allah El Basyouny. A histological and immunohistochemical study on the parabronchial epithelium of the domestic fowl's (*Gallus gallus domesticus*) lung with special reference to its scanning and transmission electron microscopic characteristics. // NY: Cambridge Univ Press. 2021. №3. С.156-168

3. Ажикина, О. Ю. Сравнительная характеристика способов дебикирования клюва индюшки и их влияния на физиологию птицы / О. Ю. Ажикина, П. А. Полистовская // Сборник материалов Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, посвященной 15-летию со дня образования института биотехнологии и ветеринарной медицины «актуальные вопросы развития аграрной науки», Тюмень, 12 октября 2021 года. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2021. – С. 455-458.

4. Власова Е.Ю., Белкин Б.Л., Крюков В.И. Профилактика гиповитаминоза у индюшат при применении комплексного препарата «Алфавит Ад3Е» // Вестник аграрной науки. 2019. №6(81). С.36-46.

5. Влияние препарата "Витол-86" на прирост массы тела перепелов / В. А. Трушкин, С. П. Ковалев, А. А. Никитина, А. П. Вотинцева // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 16 ноября 2018 года / Редколлегия: Стекольников А. А. (отв. редактор), Карпенко Л. Ю. (зам. отв. редактора), Иванов В. С., Токарев А. Н., Лукина Ю.Н., Пристач Л. Н., Трушкин В. А., Бахта А. А., Полистовская П. А. –

Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2018. – С. 103-104.

6. Динамика ферментативной активности сыворотки крови перепелов при применении различных кормовых добавок / С. В. Васильева, Н. В. Пилаева, В. А. Трушкин [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 3. – С. 235-237.

7. Ежков, В.О. Особенности нарушения обмена веществ у кур в условиях промышленного птицеводства // Международный НК по патофизиологии животных. – С.-Пб., 2006. С. 57-58

8. Изменение основных показателей обмена веществ у перепелов под влиянием микронизированных кормовых добавок / С. В. Васильева, В. А. Трушкин, Н. В. Пилаева [и др.] // Ипнология и ветеринария. – 2015. – № 3(17). – С. 35-38.

9. Оценка влияния применения различных биологически активных добавок в рационе птиц на физико-химические показатели мяса / М. А. Гласкович, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, К. П. Кинаревская // Международный вестник ветеринарии. – 2018. – № 2. – С. 54-59.

10. Оценка влияния пробиотика "Ветом 1.1" на биохимические показатели крови перепелов / В. А. Трушкин, А. А. Воинова, Г. С. Никитин [и др.] // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии : Материалы IV-го Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов, Санкт-Петербург, 17–19 октября 2016 года / Организационный комитет: председатель Стекольников Александр Александрович, зам. председателя Андреева Надежда Лукьяновна и др.. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2016. – С. 194-195.

11. Оценка эффективности применения лечебно-профилактического препарата "Биококтейль-НК" в рационах цыплят-бройлеров / М. А. Гласкович, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, К. П. Кинаревская // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 2. –

С. 104-109. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2018.2.104.

12. Резниченко А.А., Денисова Ф.К., Резниченко Л.В. Эффективность использования витаминсодержащих препаратов в бройлерном птицеводстве. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана 2018. №2 С.147-151

13. Состояние российской отрасли индейководства в 2021 году // sfera.fm. food, market news URL: <https://sfera.fm/articles/pticeprom/sostoyanie-rossiiskoi-otrasli-indeikovodstva-v-2021-godu>. (Дата обращения: 18.02.2022).

14. Сравнительная характеристика изменения гематологических показателей и скорости роста у перепелов под влиянием кормовых добавок / В. А. Трушкин, Г. С. Никитин, А. А. Воинова, С. В. Василье-

ва // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 1. – С. 126-128.

15. Трушкин, В. А. Динамика основных показателей метаболизма у перепелов при скармливании микронизированных дрожжей и рисовой лузги / В. А. Трушкин, С. В. Васильева, А. А. Воинова // Материалы II Международного Ветеринарного Конгресса VETinstanbul Group-2015, Санкт-Петербург, 07–09 апреля 2015 года / Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины. – Санкт-Петербург: Типография ООО "ТОППРИНТ", 2015. – С. 424.

16. Тюмина Н.А. Количественные характеристики популяции реснитчатых эпителиоцитов бронхов крыс в процессе формирования дефинитивной структуры легких. // Вестник новых медицинских технологий, электронный журнал. 2018. №5 С. 259-263

УДК: 611.321:636.398.6
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.90

МАКРОМОРФОЛОГИЯ ГЛОТКИ КОЗЫ АНГЛО-НУБИЙСКОЙ ПОРОДЫ

Щипакин М. В. – д.вет.н., доц. кафедры анатомии животных; Былинская Д. С. – к.вет.н., доц. кафедры анатомии животных; Хватов В. А. – ассистент кафедры анатомии животных (Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины)

Ключевые слова: морфология, коза, хрящ, мышца, ротоглотка, носоглотка. **Key words:** morphology, goat, cartilage, muscle, oropharynx, nasopharynx.



РЕФЕРАТ

В последнее время анатомия козы является актуальной и привлекает внимание ветеринарных морфологов и клиницистов. Козу используют для ряда целей, включающие такие как: производство мяса и молока, биомедицинские исследования. Особенность топографии глотки как органа в том, что она расположена между двумя жизненно важными системами (пищеварительной и дыхательной). Пища и воздух проходят через глотку на пути к пищеводу или гортани, а также во время отрыжки у жвачных животных, что играет важную роль в предотвращении удушья. В глотке также имеются миндалины и одиночные лимфатические узлы, которые выполняют защитную функцию. В связи с вышесказанным об актуальности исследования глотки, мы поставили перед собой цель – изучить морфологию глотки козы, а в качестве модели использовать англо-нубийскую породу. Исследование морфологии глотки козы англо-нубийской породы проводилось на базе кафедры анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Датированный материал был доставлен из фермерского хозяйства Московской области Российской Федерации «Гжельское подворье». Возраст исследованных животных составил – 1 год и старше. Возраст устанавливали со слов главного ветеринарного врача фермерского хозяйства «Гжельское подворье», а также по бонитировочным карточкам и по зубной формуле методики профессора Калугина И.И. Всего исследовано – 15 особей. При проведении исследования использовались такие методы как: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование. По результатам исследования установлена видовая и породная анатомо-топографическая характеристика строения глотки, а также структурно-функциональные группы мышц данного органа. Определены морфометрические показатели глотки у козы англо-нубийской породы. Данные исследования могут быть использованы ветеринарными специалистами в фермерских хозяйствах по разведению коз для профилактики и лечения болезней пищеварительной и дыхательной систем.

ВВЕДЕНИЕ

Первыми одомашненными сельскохозяйственными животными являются козы. Как показали, археологические литературные данные по происхождению парнокопытных, симбиотическая связь этих животных с человеком длится на протяжении 10000 лет. В последнее время ана-

томия козы является актуальной и привлекает внимание ветеринарных морфологов и клиницистов. Козу используют для ряда целей, включающие такие как: производство мяса и молока, биомедицинские исследования. Особенность топографии глотки как органа в том, что она расположена между двумя жизненно

важными системами (пищеварительной и дыхательной). Пища и воздух проходят через глотку на пути к пищеводу или гортани, а также во время отрыжки у жвачных животных, что играет важную роль в предотвращении удушья [2,4,5,7]. В глотке также имеются миндалины и одиночные лимфатические узлы, которые выполняют защитную функцию. В связи с вышесказанным об актуальности исследования глотки, мы поставили перед собой цель – изучить морфологию глотки козы, а в качестве модели использовать англо-нубийскую породу [6,8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование морфологии глотки козы англо-нубийской породы проводилось на базе кафедры анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Датированный материал был доставлен из фермерского хозяйства Московской области Российской Федерации «Гжельское подворье». Возраст исследованных животных составил – 1 год и старше. Возраст устанавливали со слов главного ветеринарного врача фермерского хозяйства «Гжельское подворье», а также по бонитировочным карточкам и по зубной формуле методики профессора Калугина И.И. Всего исследовано – 15 особей. При проведении исследования использовались такие методы как: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование.

Вариационно-статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета анализа данных в программе «Excel Windows Office XP» и «Statistika 6,0» (Statsoft, USA) с расчётом средней арифметической и её стандартной ошибки ($M \pm m$). При статистическом анализе полученных данных был использован t-критерий Стьюдента для независимых выборок, при этом достоверным считались различия при значении $p < 0,05$.

Все анатомические термины соответствуют «Международной ветеринарной анатомической номенклатуре», пятая редакция, перевод и русская терминология

профессора Зеленецкого Н. В. [1,3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании было установлено, что глотка козы англо-нубийской породы имеет неправильную воронкообразную форму. Она располагается каудовентрально от поперечной плоскости, проведенной касательно каудального конца горизонтальной пластинки небной кости до аналогичной плоскости, проведенной касательно каудальной границы крыла атланта. Длина глотки козы англо-нубийской породы варьирует в пределах от $6,50 \pm 0,60$ см до $8,50 \pm 0,80$ см. Полость глотки (cavum pharyngis) в ростральном направлении – широкая, ее диаметр в среднем составляет $3,50 \pm 0,30$ см. Это обусловлено тем, что в своей ростральной части она соединяется с ротовой и носовой полостями. Далее по направлению к перешейку глотки ее диаметр уменьшается и достигает размера в среднем от $1,55 \pm 0,20$ см. На границе с пищеводом диаметр глотки минимальный и составляет – $0,60 \pm 0,01$ см. Ростральная часть полости глотки разделена мягким небом на дорсальную носоглотку и вентральную ротоглотку, а каудальная часть – узкая и называется гортанной частью.

Носоглотка (pars nasalis pharyngis) у козы англо-нубийской породы – представляет собой самую длинную часть глотки. Ее длина варьирует от $5,50 \pm 0,60$ см до $6,40 \pm 0,60$ см. Слизистая оболочка в каудальной части носоглотки и на дорсальной поверхности мягкого неба – складчатая. Носоглотка сообщается с носовой полостью через хоаны, которые представляют собой два длинных узких отверстия, ограниченных дорсально сошником и пресфеноидом, каудовентрально – горизонтальная пластинкой небной кости и латерально – перпендикулярной пластинкой. Обе кости полностью разделены хорошо развитой глоточной перегородкой. Перегородка глотки (septum pharyngis) – представляла собой перепончатое продолжение носовой перегородки. В ростральном направлении перегородка шире, чем в каудальном. Высота ее составляет в среднем $1,30 \pm 0,20$ см, poste-

пенно уменьшается и заканчивается заостренным узким концом. Свод глотки (*fornix pharyngis*) – гладкий, вогнутый и разделен перегородкой глотки на две глубокие узкие полости. Глоточное отверстие слуховой трубы (*ostium pharyngeum tubae auditivae*) – представляет собой серповидную щелевидную структуру, расположенную в каудодорсальной части боковой стенки носоглотки в 3,50–4,00 см от хоан. Снаружи покрыто тонкой складкой слизистой оболочки. Глоточный карман (*recessus pharyngeus*) – представляет собой узкое каудальное расширение носоглотки за пределами отверстия слуховой трубы. С медиальной поверхности ограничено каудальным концом глоточной перегородки и с боков слуховой трубой. Глоточная миндалина (*tonsilla pharyngea*) – расположена на каудолатеральной стенке носоглотки и в каудальной части носовой перегородки, а трубная миндалина (*tonsilla tubaria*) в медиальной и латеральной пластинках слуховых труб.

Ротоглотка (*pars oralis pharyngis*) козы англо-нубийской породы – короткая, широкая и располагается от начальной части небно-язычной дуги до основания надгортанника, который общается с полостью рта через перешеек зева (*isthmus faucium*). Последний имеет вид узкого, овального или округлого отверстия, ограниченного дорсально мягким небом, вентрально корнем языка и с боков небно-язычной складкой. Небная миндалина (*tonsilla palatina*) – располагается на боковой стенке ротоглотки в каудальной трети ротоглотке и выступает в ее полость.

Переход глотки в гортань представляет собой самую узкую и короткую часть полости глотки. Она простирается каудально от глоточного перешейка вокруг входа в гортань и заканчивается у входа в пищевод дорсальнее к кольцевидному хрящу. Она сообщается с гортанью через вход гортани, расположенный между надгортанником, с краниальной поверхности и каудально рожковыми отростками, латерально ограничен черпаловидной складкой. Грушевидный карман (*recessus piriform*) – представляет собой узкий не-

глубокий проход между ротоглоткой и пищеводом, ограниченный медиально черпаловидно-надгортанной складкой, а с боков небно-глоточной складкой. Вход в пищевод (*auditus oesophagi*) – представлен почти округлым отверстием, выстланным многочисленными продольными складками, расположенными дорсально к каудальной границе пластинки кольцевидного хряща.

Мягкое небо (*palatum molle*) – представлено мышечно-перепончатой складкой, выступающей в ростральную часть глотки, разделяющей ее с дорсальной поверхности на носоглотку и вентральную – на ротоглотку. Оно тянется каудовентрально от вогнутой свободной границы горизонтальной пластинки небной кости и заканчивается перед ней хрящом надгортанника. Небная дуга (*arcus palatini*) – вогнутая, образует ростральный край внутриглоточного отверстия. Как дорсальная, так и вентральная поверхности мягкого неба складчатые с многочисленными рассеянными лимфатическими узелками. Небно-язычная складка (*plica palatoglossus*) – в виде короткой тонкой складки, идущей от боковой границы начальной части мягкого неба ростровентрально к корню языка, где образует боковую границу перешейка зева. Небно-глоточная дуга (*arcus palatopharyngeus*) – представляет собой каудальное продолжение боковых частей небной дуги на боковой стенке глотки, где образуют боковую границу грушевидного кармана. Каждый из них проходит каудомедиально по

боковой стенке гортани. Внутриглоточное отверстие (*ostium intrapharyngeum*) – треугольной формы, ограничено рострально вогнутой небной дугой, а с боков и каудально небно-глоточными дугами и располагается чуть выше и вокруг гортанного возвышения (*laryngeal prominence*).

При исследовании мышечного аппарата глотки у козы англо-нубийской породы пришли к выводу, что он представлен тремя парами констрикторов (суживатели) и одной парой дилаторов (расширители).

Первая пара представлена краниальным констриктором, который при сокращении тянет пищевод вперед и состоит из двух мышц: небно-глоточная мышца (*m. palatopharyngeus*) начинается на небной кости и заканчивается на глоточном шве. Крыло-глоточная мышца (*m. pterygopharyngeus*) начинается на крыловидной кости и заканчивается на глоточном шве.

Вторая пара представлена средним констриктором, который при сокращении суживает глотку и проталкивает пищевой ком в каудальном направлении и состоит из двух мышц: рогоглоточная мышца (*m. keratopharyngeus*) начинается от большого рога подъязычной кости и заканчивается на глоточном шве. Хрящеглоточная мышца (*m. chondropharyngeus*) начинается от среднего членика подъязычной кости и заканчивается на глоточном шве.

Третья пара представлена каудальным констриктором, который сокращаясь суживает глотку и проталкивает пищевой ком в пищевод и состоит из двух мышц: щитовидно-глоточная мышца (*m. thyropharyngeus*) берет начало от щитовидного хряща гортани и заканчивается на глоточном шве. Кольцеглоточная мышца (*m. sticopharyngeus*) начинается на кольцевидном хряще гортани и заканчивается на глоточном шве.

Дилататоры представлены нижеперечисленными мышцами: подъязычно-глоточная мышца (*m. stylopharyngeus*) начинается от среднего членика подъязычной кости и тянется до боковой стенки глотки, расширяет глотку после акта глотания. Непарная глоточная мышца (*m. pharyngis azygos*) входит в состав мышечной оболочки глотки и при сокращении сжимает передний участок. Начинается от тела подъязычной кости, проходит через стенку глотки и оканчивается на теле подъязычной кости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования установлена видовая и породная анатомо-топографическая характеристика строения глотки, а также структурно-функциональные группы мышц данного органа. Определены морфометрические

показатели глотки у козы англо-нубийской породы. Данные исследования могут быть использованы ветеринарными специалистами в фермерских хозяйствах по разведению коз для профилактики и лечения пищеварительной и дыхательной систем.

MORPHOLOGY OF THE THROAT OF AN ANGLO-NUBIAN GOAT

Shchipakin M. V. – Doctor of Veterinary Sciences, Assoc. prof. Department of Animal Anatomy; Bylinskaya D. S. – Ph.D., Assoc. prof. Department of Animal Anatomy; Khvatov V. A. – Assistant of the Department of Animal Anatomy (St. Petersburg State University of Veterinary Medicine)

ABSTRACT

In recent years, the anatomy of a goat is relevant and attracts the attention of veterinary morphologists and clinicians. The goat is used for a number of purposes, including such as: meat and milk production, biomedical research. The peculiarity of the topography of the pharynx as an organ is that it is located between two vital systems (digestive and respiratory). Food and air pass through the pharynx on the way to the esophagus or larynx, as well as during belching in ruminants, which plays an important role in preventing suffocation. There are also tonsils and single lymph nodes in the pharynx, which perform a protective function. In connection with the above about the relevance of pharyngeal research, we set a goal to study the morphology of the goat's pharynx, and use the Anglo-Nubian breed as a model. The study of the morphology of the throat of the Anglo-Nubian goat breed was conducted on the basis of the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. The dated material was delivered from the farm of the Moscow region of the Russian Federation "Gzhelskoe podvorye". The age of the studied animals was 1 year and older. The age was determined from the words of the chief veterinarian of the farm "Gzhel farmstead", as well as according to the bonus cards and according to the dental formula of the methodology of Professor I.I. Kalugin, a total of 15 individuals were studied. During the

study, such methods as: fine anatomical dissection, morphometry, photographing were used. According to the results of the study, the species and breed anatomical and topographic characteristics of the structure of the pharynx, as well as the structural and functional muscle groups of this organ were established. Morphometric parameters of the pharynx of the Anglo-Nubian goat breed were determined. These studies can be used by veterinary specialists in goat farms for the prevention and treatment of diseases of the digestive and respiratory systems.

ЛИТЕРАТУРА

1. Былинская, Д. С. Анатомия верхнечелюстной кости рыси евразийской / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский, Д. В. Васильев // Аграрное образование и наука - в развитии животноводства: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию заслуженного работника сельского хозяйства РФ, почетного работника ВПО РФ, лауреата государственной премии УР, ректора ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, доктора сельскохозяйственных наук, профессора Любимова Александра Ивановича. В 2-х томах., Ижевск, 20 июля 2020 года. – Ижевск: Ижевская государственная сельскохозяйственная академия, 2020. – С. 260-262.
2. Васильев, Д. В. Анатомотопографические особенности васкуляризации глотки у козы англо-нубийской породы / Д. В. Васильев, В. А. Хватов, М. В. Щипакин, А. С. Стратонов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 134-137.
3. Зеленевский, Н. В. Строение и васкуляризация сердца, органов грудной клетки и шеи рыси евразийской / Н. В. Зеленевский, К. Н. Зеленевский, Д. В. Васильев // Фундаментальные и прикладные исследования в ветеринарии и биотехнологии: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию образования Иркутской государственной сельскохозяйственной академии и 10-летию первого выпуска ветеринарных врачей, Иркутск, 10–11 ноября 2014 года. – Иркутск: Издательство "Перо", 2014. – С. 62-71.
4. Зеленевский, Н. В. Анатомия и физиология животных: учебник / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленевский; под ред. Н. В. Зеленевского, рец. А. А. Кудряшов. – 1-е издание. – Санкт-Петербург, Москва, Краснодар: Лань, 2015. – 368 с.
5. Зеленевский, Н. В. Анатомия лошади: (атлас-учебник): [в 3 т.] / Н. В. Зеленевский; Н. В. Зеленевский. – Санкт-Петербург: ИКЦ, 2007. – 21 с.
6. Глушенок, С. С. Анатомические особенности строения носовой полости речного бобра / С. С. Глушенок, М. В. Щипакин, В. А. Хватов // Современное состояние и перспективы развития ветеринарной и зоотехнической науки: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Чебоксары, 29 октября 2020 года. – Чебоксары: Чувашский государственный аграрный университет, 2020. – С. 222-225.
7. Морфофизиология аппарата пищеварения и дыхания у животных / Ю. М. Малюфеев, А. А. Липовских, О. С. Мишина [и др.]. – Барнаул, 1998. – 110 с.
8. Стратонов, А. С. Сравнительная морфометрия носовой полости у крыс и мышей / А. С. Стратонов, С. С. Глушенок, С. А. Александрова, Ю. Ю. Бартенева // 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. 99-101.

УДК: 619:612.212.1-007.271

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.95

ФАКТОРЫ РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ИНТРАНАЗАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ У КОШЕК

Меликова Ю.Н. – к.в.н., Сотникова Л.Ф. – д.в.н., проф. ФГБОУ ВО Московский государственный университет пищевых производств Стекольников А.А. – академик РАН, д.в.н., проф. Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины

Ключевые слова: кошка, носовая полость, новообразование, сужение носовых ходов.
Keywords: cat, nasal cavity, neoplasm, nasal passage narrowing.



РЕФЕРАТ

Интраназальные новообразования у кошек встречаются реже, чем у собак и составляют по данным литературы до 1 % от всех новообразований у кошек. Чаще всего карцинома и саркома развиваются у кошек средней возрастной группы, а интраназальные лимфомы чаще встречаются у более молодых животных.

Этиологические факторы, вызывающих интраназальные новообразования у кошек, разнообразны. Алгоритм диагностики новообразований носа у кошек зависит от клинических проявлений процесса и включает в себя диагностику, направленную на определение клинической стадии онкологического заболевания и постановки окончательного диагноза на основании морфологического заключения. А также диагностический алгоритм необходим для выбора методов лечения. Определение клинической стадии напрямую зависит от визуализации новообразования в носовых ходах, вовлечения одного или двух носовых ходов в онкопроцесс, степени распространения опухоли в окружающие ткани – при помощи таких методов визуальной диагностики, как МРТ и КТ, направленных на определение локализации патологии, распространение, степень инвазии и степени вовлеченности кровеносных сосудов в конкретный онкологический процесс. Такие методы диагностики, как пальпации регионарных лимфатических узлов, рентгенограммы органов грудной клетки и ультрасонографии органов брюшной полости, направлены на определение клинической стадии онкопатологий.

ВВЕДЕНИЕ

Интраназальные опухоли составляют 1% от общего количества онкопатий у кошек. Злокачественные новообразования и доброкачественные встречаются в соотношении 10:1, это может быть связано с возможностью озлокачествления клеток на фоне хронического воспалительного процесса [5, 7, 10].

Характер возникновения и развития интраназальных новообразований у кошачьих носит многофакторный характер. Факторы риска возникновения и развития интраназальных опухолей могут быть различного характера. Нельзя ис-

ключать влияние физических, химических, вирусных, возрастных, породных, половых, генетических и т.д. причин на генетический аппарат клетки живого организма, вызывая мутацию и малигнизацию [3, 9, 11].

Любые хронические процессы, травматизация тканей, инородные тела, паразитарные, бактериальные и вирусные заболевания, строение черепа, породная предрасположенность, влияние на слизистую носовой полости вдыхаемых химических веществ, влияющих на канцерогенез опухоли и т.д могут являться предрасполагающими факторами раз-

вития злокачественных онкопатий [1].

Интраназальные злокачественные опухоли – это тяжело протекающие патологии. Скрытое течение на ранних этапах онкологического заболевания затрудняет своевременную диагностику из-за отсутствия клинических симптомов. [1, 2, 6, 8].

Клинические симптомы, связанные с воспалительным процессом и клинические симптомы при онкопатиях, такие как истечения из носовой полости, чихание, отек, схожи, что затрудняет дифференци-

ровку патологий без специальных методов диагностики, таких как МРТ и КТ. Комплексное консервативное лечение без подтверждения диагноза приводит или к частичному, или к полному исчезновению клинических симптомов, что вводит лечащего врача в заблуждение, заставляя склоняться в сторону постановки диагноза «ринит». Такой ответ на лечение скорее указывает на устранение воспалительного процесса, который является следствием сдавления окружающих здоровых

Таблица №1
Возрастная предрасположенность кошек с интраназальными новообразованиями

Возраст, лет	Кол-во больных, в абсолютных величинах	Кол-во больных, % в абсолютных величинах
1-5	7	14,9
5-7	11	23,4
8-12	21	44,6
13 и старше	8	17,1

Таблица №2
Половая предрасположенность кошек с интраназальными новообразованиями

Пол	Кол-во больных, в абсолютных величинах	Кол-во больных, % в абсолютных величинах
Кастрированные самцы	17	36,2
Некастрированные самцы	2	4,3
Кастрированные самки	16	34,0
Некастрированные самки	12	25,5

Таблица №3
Породная предрасположенность кошек с интраназальными новообразованиями

Порода	Кол-во больных, в абсолютных величинах	Кол-во больных, % в абсолютных величинах
Без породной предрасположенности	18	38,3
Сибирская	2	4,3
Бенгальская	2	4,3
Корниш рекс	2	4,3
Сиамская	10	21,3
Британская	4	8,5
Персидская	5	10,5
Мейнкун	4	8,5

тканей опухолью, но не является вариантом лечения онкологического процесса. В большинстве случаев интраназальные опухоли распространяются на близлежащие структуры, в том числе на околоносовые пазухи и в область носоглотки, что приводит к развитию дополнительных клинических симптомов, таких как кашель, слезотечение, деформацию лицевой части черепа, эпиприступы, вынужденное дыхание с открытым ртом, нехарактерное для кошек и тд. Из-за быстрого распространения злокачественного процесса становится невозможным определить первичную локализацию опухоли. [4, 5, 7, 10]

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение распространения интраназальных новообразований у кошек основано на изучении 47 клинических случаев животных с поражением носовой полости в возрасте от 5 месяцев до 18 лет с проявлением клинических симптомов от общего количества пациентов (N=4937).

Для проведения исследования и распределение животных в группы согласно аналогов был использован алгоритм диагностики и лечения интраназальных патологий: полный сбор анамнеза, клинический осмотр, включающий в себя все необходимые манипуляции, были использованы методы визуальной диагностики, такие как рентгенография, ультрасонография, МРТ, КТ, риноскопия, проведены необходимые лабораторные исследования, в том числе морфологические исследования, такие как цитологическое, гистологическое и иммуногистохимическое исследования. Обязательным условием для определения клинической стадии заболевания были использованы клинический осмотр, пальпация, рентгенография органов грудной клетки и головы, УЗИ-диагностика органов брюшной полости, МРТ и/или КТ головы. Морфологические исследования были важным критерием для постановки окончательного диагноза, в том числе гистологическое и иммуногистохимическое исследование служило прогностически важным критерием оценки.

МРТ исследований у 29 кошек наблюдались гомогенные, реже гетерогенные

образования с признаками злокачественности: инвазия в окружающие ткани, лизис костных структур, смещение или лизис носовой перегородки, наличие воспалительного компонента; у 16 кошек – гетерогенные или гомогенные отграниченные образования с наличием или без наличия воспалительного компонента; у 2 кошек – очаговые изъязвленные образования с признаками гипоплазии слизистой оболочки, с наличием воспалительного компонента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У 47 кошек (100%) были выявлены симптомы, характерные для патологий носовой полости, из них 28 самок (59,6%) и 19 самцов (40,4%).

Наиболее предрасположенными к развитию интраназальных злокачественных опухолей оказалась группа кошек 8-12 лет (44,6%) – исключение составляют кошки с интраназальными лимфомами. У кошек в возрасте 1-5 лет, 5-7 лет и 13 лет и старше, интраназальные новообразования встречаются в 14,9%, 23,4% и 17,1% случаев соответственно. Результаты исследований приведены в таблице №1. По результатам исследований (таблица №2) половая предрасположенность не выявлена, однако у самок, включенных в наше исследование, интраназальные злокачественные опухоли встречались чаще, чем у самцов (59,5% и 40,5% соответственно). В наше исследование было включено большое количество беспородных кошек, так как у них чаще встречались новообразования носовой полости (таблица №3) – 18 кошек (38,3%), а также у кошек сиамской породы – 10 кошек (21,3%); могут наблюдаться у сибирских, британских и кошек породы мейнкун – 5 (10,5%) и по 4 (8,5%) случая соответственно. Окончательный диагноз любого онкологического заболевания ставится на основании морфологических исследований, по результатам которых нам удалось установить наиболее часто встречающиеся интраназальные новообразования у исследуемых кошек (таблица №4). Интраназальные лимфомы – 16 случаев (34,0%) – встречаются у кошек наиболее часто, в



Рис. 1. Респираторный полип. Искривление спинки носа, истечения из глаз



Рис 2. Плоскоклеточный рак носовой полости. Искривление спинки носа, гнойные выделения из носовых ходов

Таблица №4.

Морфологическое исследование интраназальных новообразований кошек

Гистологический диагноз	Абсолютное кол-во	Относительное кол-во
Недифференцированные новообразования	5	10,7
Саркома мягких тканей без определения фенотипа	7	14,9
Фибросаркома	1	2,1
Лимфома	16	34,0
Плоскоклеточный рак	7	14,9
Аденокарцинома	7	14,9
Грибковый ринит	1	2,1
Инородный предмет	1	2,1
Аневризальная киста	2	4,3

отличии от других опухолей носовой полости: саркомы мягких тканей, плоскоклеточный рак и аденокарциномы – по 7 кошек (14,9%), аневризальные кисты – 2 случая (4,3%), фибросаркома – 1 кошка (2,1%). Также в носовой полости у кошек были диагностированы грибковый ринит и инородный предмет – по 1 случаю (2,1%). Как видно из таблицы 6, при оценке клинических симптомов истечения из носовой полости являются самым частым симптомом – 34 случая (72,3%), отмечали преобладание односторонних над двусторонними, причем характер выделений может быть различным. Чихание встречалось в 34 случаях (72,3%), кашель

в 7 случаях (14,9%). Деформация лицевой части черепа наблюдалась у 13 кошек (27,6%), эпистаксис, слезотечение и вялость – по 7 случаев (10,6%). У 3 кошек (6,4%) встречались неврологические симптомы.

ВЫВОДЫ

Понимание процесса развития опухолевого очага позволяет разработать алгоритм диагностики и лечения, исходя из морфологического диагноза, а также научно-обоснованный подход к лечению интраназальных новообразований у кошек. Основная цель лечения онкологических заболеваний, особенно на поздних стадиях, заключается в улучшении качества жизни пациента.

Таблица №5
Клинические проявления интраназальных новообразований

Признаки н/о, возникающие после:	Абсолютное кол-во	Относительное кол-во
Односторонние выделения носового хода	34	72,3
Прогрессирующее чихание	34	72,3
Кашель	7	14,9
Шумное дыхание	15	32,9
Эпистаксис	5	10,6
Билатеральные симптомы	10	21,3
Деформация лицевой части черепа	13	27,6
Слезотечение	5	10,6
Вялость	5	10,6
Неврологические симптомы	3	6,4

THE RISK FACTORS OF THE OCCURRENCE AND DEVELOPMENT OF INTRANASAL NEOPLASMS IN CATS.
Yu. Melikova- Candidate of Veterinary Sciences (FGBOU VO "Moscow State University of Food Production"), Associate Professor, L. Sotnikova- doctor of veterinary sciences, professor (FGBOU VO "Moscow State University of Food Production") , A. Stekolnikov- doctor of veterinary sciences, professor- St. Petersburg State University of Veterinary Medicine.
ABSTRACT

Intranasal neoplasms in cats are less common than in dogs and, according to the literature, account for up to 1% of all neoplasms in cats. Most often, carcinoma and sarcoma develop in cats of the middle age group, and intranasal lymphomas are more common in younger animals.

The etiological factors causing intranasal neoplasms in cats are diverse. The algorithm for diagnosing nasal neoplasms in cats depends on the clinical manifestations of the process and includes diagnostics aimed at determining the clinical stage of cancer and making a final diagnosis based on a morphological conclusion. And also a diagnostic algorithm is necessary for the choice of treatment methods. The determination of the clinical stage directly depends on the visualization of the neoplasm in the nasal passages, the involvement of one or two nasal passag-

es in the oncological process, the degree of spread of the tumor into the surrounding tissues – using visual diagnostic methods such as MRI and CT aimed at determining the localization of pathology, the spread, the degree of invasion and the degree of involvement of blood vessels in a specific oncological process. Diagnostic methods such as palpation of regional lymph nodes, chest X-rays and ultrasonography of abdominal organs are aimed at determining the clinical stage of oncopathologies.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.Добсон Джейн М., Ласцеллес Б., Дункан К. Онкология собак и кошек, М.: 2017; 331-333.
- 2.Морохоев В.И. Ошибки в ранней диагностике злокачественных опухолей решетчатой кости. Журнал «Вестник оториноларингологии», 1990; 5, 60-64.
- 3.Пачес А.И. Опухоли головы и шеи. – М.; 2000; 479.
- 4.Юрина Н.А., Радостина А.И. Современные виды томографии. Санкт-Петербург.
- 5.Сох N.R., Brawner W.R., Powers R.D., Wright J.C. Tumors of the nose and paranasal sinuses in cats: 32 cases with comparison to a national database (1977-1987). Journal of the American Animal Hospital Association, 1991; 27, 339-347
- 6.Douglas S.W., Herrtage M.E., Williamson H.D. Principles of veterinary radiography. London, Balliere Tindall, ed. 4, 1987.

7. Haar G.T. Diseases of the nose, nasal plane, nasal cavity and frontal sinus. World Congress WSAVA/FECAVA/CSAVA – Prague, 2006

8. Harvey C.E. The nasal septum of the dog: is it visible radiographically? Journal of Veterinary Radiology, 1979, 20, 28.

9. Holmberg D.L., Frites C., Cockshutt J., van Pelt D. Ventral rhinotomy in the dog and cat.

Journal of Veterinary Surgery, 1989, 18, 446-449;
10. MacEwen E.G., Withrow S.J., Patnaik A.K. Nasal tumors in the dog: retrospective evaluation of diagnosis, prognosis and treatment. Journal of the American Veterinary Medical Association, 1977, 170, 45-48.

11. Patnaik AK: Canine sinonasal neoplasms: Clinicopathological study of 285 cases, J Am Anim Hosp Assoc 25:103-114, 1989.

УДК 577.112.825:616.98:579.887.111:636.2

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.100

СОДЕРЖАНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КОРОВ-МАТЕРЕЙ С ГЕНИТАЛЬНЫМ МИКОПЛАЗМОЗОМ И РОЖДЕННЫХ ОТ НИХ ТЕЛЯТ

Васильев Р.М., доц.каф. клинической диагностики, ФГБОУ ВО СПбГУВМ (ORCID 0000-0002-0693-3050)

Ключевые слова: микоплазмоз, коровы, телята, Ig G, Ig M, Ig A. **Key words:** mycoplasmosis, cows, calves, Ig G, Ig M, Ig A.



РЕФЕРАТ

Состояние иммунной системы новорожденных животных во многом определяет их дальнейшее развитие, заболеваемость, продуктивные качества. Различные заболевания беременных животных в определенной степени оказывают влияние на организм плода, особенно это актуально, если болезнь характеризуется стертой клинической картиной и ее сложно своевременно диагностировать. Одним из таких заболеваний является генитальный микоплазмоз крупного рогатого скота, имеющий широкое распространение, как в нашей стране, так и за рубежом. Несмотря на это, многие аспекты патогенеза генитального микоплазмоза остаются мало изучены, особенно состояние иммунной системы. Было проведено исследование содержания классов иммуноглобулинов у здоровых сухостойных коров и коров с генитальным микоплазмозом, а также у рожденных ими телят. Результаты показали значительное снижение общего уровня иммуноглобулинов и перераспределение их классов у коров с генитальным микоплазмозом. Изменения аналогичного характера, но более выраженные, констатировали и у телят, рожденных от этих коров. Проведенные исследования показывают, что у стельных коров с генитальным микоплазмозом развивается иммунодефицитное состояние, характеризующееся снижением общего количества иммуноглобулинов, значительным уменьшением уровня Ig G и повышением концентрации Ig A. Похожее иммунодефицитное состояние наблюдалось и у телят, полученных от этих коров. Отмеченные изменения будут полезны для разработки рациональной терапии генитального микоплазмоза у коров.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях современного ведения животноводства особое значение приоб-

ретает изучение заболеваний, характеризующихся длительным бессимптомным течением, поскольку своевременная их

диагностика и знание патогенетических механизмов позволит существенно сократить экономический ущерб, причиняемый ими. Болезни, формирующие эту группу, имеют различную этиологию и вовлекают в патологический процесс, как отдельные органы, так и целые системы, что негативно сказывается на продуктивных качествах животных (1, 2, 5). Одним из таких заболеваний является генитальный микоплазмоз крупного рогатого скота, отличающийся длительным бессимптомным течением и приводящий к постепенному развитию необратимых изменений в органах репродуктивного тракта (1, 6). Результаты мониторинговых исследований животноводческих хозяйств Северо-Западного региона показывают, что значительная часть продуктивного поголовья коров инфицировано микоплазмами (2, 3).

Заболевания любой этиологии оказывают влияние на иммунологическую реактивность организма животных (4, 5). На сегодняшний день имеется мало данных о патогенетических механизмах течения генитального микоплазмоза у коров, особенно о состоянии иммунной системы стельных коров и рожденных от них телят. Иммунный статус новорожденных телят во многом зависит от состояния организма матери во время беременности, а также количества и классового состава иммуноглобулинов, получаемых с молозивом.

Исходя из этого, целью наших исследований было изучение содержания в сыворотке крови иммуноглобулинов и классового их состава у клинически здоровых коров и коров с генитальным микоплазмозом, а также у рожденных от них телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе ЗАО «Осьминское» Сланцевского района Ленинградской области. Для проведения эксперимента были сформированы следующие группы животных: клинически здоровые стельные коровы, стельные коровы с генитальным микоплазмозом, телята от клинически здоровых коров, телята от коров с генитальным микоплазмозом. В

каждую группу входило по 8 животных. Наличие генитального микоплазмоза устанавливали с помощью ПЦР-теста на *Mycoplasma spp.*, в последующем серологически идентифицированной, как *M. bovis genitalium*. У каждой группы коров и телят получали кровь из яремной вены, отделяли сыворотку. У коров кровь брали за 7 дней до предполагаемых родов, у телят на 9-й день жизни. В сыворотке проводили определение иммуноглобулинов классов G, M, A методом дискретного осаждения по Костына М.А. (1983). Полученные результаты статистически обработаны с применением компьютерной программы SPSS 22.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований представлены в таблице 1.

Из данных таблицы видно, что у сухостойных коров с генитальным микоплазмозом наблюдается снижение концентрации Ig G в сыворотке крови почти в два раза по отношению к клинически здоровым животным. Аналогичные межгрупповые различия в содержании иммуноглобулина G отмечались и у рожденных ими телят. В обоих случаях изменения носили высокодостоверный характер.

Противоположный характер носило изменение уровня Ig A. Так, у здоровых коров и рожденных ими телят его количество было достоверно ниже на 3,35 г/л и 1,45 г/л, чем у аналогичных групп животных с генитальным микоплазмозом.

При изучении содержания Ig M у здоровых коров и коров с микоплазмозом установлено практически одинаковое его значение, тогда как у телят, рожденных от инфицированных коров его уровень был на 23% ($P < 0,05$) ниже, чем у здоровых.

Общее содержание иммуноглобулинов, не смотря на разнонаправленную динамику их классов, в группе клинически здоровых коров было на 20% выше, чем у животных с генитальным микоплазмозом, такие же изменения наблюдались и у рожденных ими телят, только межгрупповое различие было выражено сильнее.

Полученные результаты демонстриру-

Таблица 1

Классовый состав иммуноглобулинов в сыворотке крови здоровых коров, коров с генитальным микоплазмозом и рожденных от них телят

Показатели	здоровые		генитальный микоплазмоз	
	коровы	телята	коровы	телята
Ig G, г/л	17,45±0,63	9,55±0,32	9,26±0,41***	4,79±0,17***
Ig M, г/л	3,41±0,17	2,46±0,19	3,34±0,14	1,89±0,1*
Ig A, г/л	2,8±0,09	1,79±0,12	6,15±0,13***	3,24±0,15***
Ig общие, г/л	23,66±0,6	18,8±0,48	18,76±0,38***	9,91±0,27***

* указан уровень достоверности: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$

ют значительные изменения как в общем содержании иммуноглобулинов, так и их классов в сыворотке крови коров обеих групп. Существенное снижение уровня Ig G у коров с генитальным микоплазмозом, может быть связано с одной стороны с антигенной вариабельностью возбудителя, а с другой с хроническим воздействием метаболитов и цитокинов микоплазм на иммунную систему коров.

Одинаковый уровень Ig M у здоровых и инфицированных микоплазмой коров вероятнее всего объясняется тем, что он, находясь в основном в кровяном русле, реагирует с патогенами, проникающими в системный кровоток, а микоплазмы колонизируют слизистые оболочки и в крови почти не встречаются.

Высокое содержание иммуноглобулина A у коров с генитальным микоплазмозом обусловлено тем, что данный класс иммуноглобулинов активно участвует в формировании локального иммунитета, в том числе слизистых оболочек, и колонизация микоплазмами слизистой оболочки влагалища постоянно стимулирует выработку данного иммуноглобулина (7).

Что касается иммуноглобулинового состава сыворотки крови телят, рожденных от здоровых коров и коров с микоплазмозом, то его изменения в основном совпадали с изменениями, выявленными в сыворотке крови коров-матерей. Это связано с тем, что количество и соотношение классов иммуноглобулинов в сыворотке крови новорожденных телят, главным образом определяется их содержанием в молозиве матерей (3). Единственным отличием являлся достоверно

более низкий уровень Ig M у телят от коров с генитальным микоплазмозом, что может быть отражением иммунодефицитного состояния организма матери в период беременности.

ВЫВОДЫ

Проведенные исследования позволяют констатировать, что генитальный микоплазмоз у сухостойных коров, по сравнению с клинически здоровыми сопровождается перераспределением классов иммуноглобулинов в сыворотке крови. Это проявляется достоверным снижением концентрации Ig G и повышением уровня Ig A, на фоне одинакового содержания Ig M. Следует отметить, что не смотря на перераспределение иммуноглобулинов общее их содержание в группе коров с микоплазмозом было достоверно ниже, чем у здоровых. Изучение аналогичных показателей у телят, рожденных от здоровых коров и коров с микоплазмозом, показало сходную динамику классов иммуноглобулинов с коровами-матерями. Полученные результаты указывают на необходимость введения иммунокорректирующих препаратов в схему лечения генитального микоплазмоза крупного рогатого скота.

THE CONTENT OF IMMUNOGLOBULINS IN THE BLOOD SERUM OF MOTHER COWS WITH GENITAL MYCOPLASMOSIS AND CALVES BORN FROM THEM

Vasiliev R.M., Ph.D., Associate Professor, Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine

ABSTRACT

The state of the immune system of newborn animals largely determines their further

development, morbidity, and productive qualities. Various diseases of pregnant animals to a certain extent affect the body of the fetus, this is especially true if the disease is characterized by an erased clinical picture and it is difficult to diagnose it in a timely manner. One of these diseases is genital mycoplasmosis of cattle, which is widespread both in our country and abroad. Despite this, many aspects of the pathogenesis of genital mycoplasmosis remain poorly understood, especially the state of the immune system. A study was made of the content of immunoglobulin classes in healthy dry cows and cows with genital mycoplasmosis, as well as in calves born by them. The results showed a significant decrease in the level of immunoglobulins and a redistribution of their classes in cows with genital mycoplasmosis. Changes of a similar nature, but more pronounced, were also noted in calves born from these cows. Studies show that pregnant cows with genital mycoplasmosis develop an immunodeficiency state, characterized by a decrease in the total amount of immunoglobulins, a significant decrease in the level of Ig G and an increase in the concentration of Ig A. A similar immunodeficiency state was observed in calves obtained from these cows. The noted changes will be useful for the development of rational therapy for genital mycoplasmosis in cows.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Алхуссен А. М. Патогенные микоплазмы крупного рогатого скота *Mycoplasma bovis*, *M. bovis genitalium* и *M. dispar*: краткая характеристика возбудителей / А. М. Алхуссен, В. В. Кирпиченко, С. П. Яценчук и др. // *Сельскохозяйственная биология*, 2021. - Том 56, №2. - С. 245-260

2. Васильев Р. М. Роль хламидийной и микоплазменной инфекции в этиологии бесплодия у крупного рогатого скота / Р. М. Васильев // *Международный вестник ветеринарии*. – 2008. - №3. - С. 15-16.

3. Васильев, Р. М. Иммунологические показатели сыворотки крови коров и телят при микоплазмозе / Р. М. Васильев // *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. - 2012. - №3. - С. 26-29.

4. Воинова, А. А. Оценка распространенности гепатозов среди коров молочных стад / А. А. Воинова, С. П. Ковалев, Г. С. Никитин // В сборнике: *Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ*. - 2017. - С. 16-17.

5. Ковалев, С. П. Морфологические показатели крови у телят-гипотрофиков и их динамика при лечении / Ковалев С. П., Воинова А. А. // В сборнике: *Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции. Материалы II-й международной конференции по ветеринарно-санитарной экспертизе*. - 2017. - С. 140-143.

6. Nicholas R. A. J. *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control / R. A. J. Nicholas, R. D. Ayling // *Research in Veterinary Science*. 2003. - Vol. 74, Issue 2. – P. 105-112

7. Vasiliev, R. M. Immuno-biological properties of vaginal discharge in healthy and mycoplasmosis-infected cows / Р. М. Васильев, С. В. Васильева // *Медицинская иммунология*. - 2021. - Том 23, №4. - С. 987-990.

УДК 636.294:575.174. 575.1

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.104

ОСОБЕННОСТИ РОСТА И ФОРМИРОВАНИЯ ТЕЛОСЛОЖЕНИЯ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ НЕНЕЦКОЙ ПОРОДЫ

Южаков А.А., д.с.-х. н., глав.науч. сотр., Лайшев К.А.- д. вет. н., член-корреспондент РАН, глав.науч.сотр. ФГБНУ «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук», г. Санкт Петербург

Ключевые слова: северные олени, ненецкая порода, весовой рост, промеры тела, линейный рост, индексы телосложения, фенотип оленей. **Keywords:** reindeer, Nenets breed, weight growth, body measurements, linear growth, physique indices, phenotype



РЕФЕРАТ

Было исследовано в Ямало-Ненецком автономном округе 169 голов оленей ненецкой породы от рождения до 18-месячного возраста. Максимальная скорость весового прироста живой массы телят наблюдается в первые 6 месяцев постнатального развития и имеет половую дифференциацию: у самцов он составил 52,5, у самок – 46,5 кг. С 6 до 12-месячного возраста, приходящегося на период зимовки, в исследованных группах оленей произошло падение абсолютных показателей прироста живой массы до минусовых значений: у самцов –5,3 кг, у самок –1,7 кг. В период с 12 до 18-месячного возраста по абсолютному приросту показатели самцов и самок оказались равными. Скорость линейного роста и формирование телосложения молодняка оленей в период от рождения до 6 - месячного возраста существенной разницы между самцами и самками не обнаружено ни визуально, ни инструментально. В период первой зимовки прирост абсолютной величины наблюдался по промерам, связанным с ростом скелета: высота в холке, высота в локте, длина головы, глубина груди, косая длина зада. Возрастной период от 12 до 18 месяцев характеризуется значительным ростом линейных величин тела у исследуемых оленей, однако разница почти по всем промерам не превысила 4%. Сравнение 10 индексов телосложения у животных показало, что в 6- и 18-месячном месячном возрасте основные пропорции телосложения близки, что свидетельствует о высокой скорости формирования фенотипа у молодняка домашних северных оленей. Сравнение индексов телосложения не выявило признаков полового диморфизма ни по одному из них, кроме индекса тазового, который во все возрастные периоды был выше у самок и индекса широтелости в 18-месячном возрасте.

ВВЕДЕНИЕ

Северное оленеводство является важнейшим видом традиционной хозяйственной деятельности коренных народов Севера. При этом отрасль сохраняет свое значение как уникальная отрасль полярного животноводства, дающая ценную продукцию для местного населения[1]. В Арктической зоне РФ ненецкая порода северных оленей является не только са-

мой многочисленной, но и наиболее полно изученной по своим морфологическим, фено- и генотипическим характеристикам [2,3].

Анализ опубликованных литературных источников показал, что по локальным и наследственным особенностям роста и развития молодняка северных оленей ненецкой породы совершенно недостаточно для надежного прогнозирования селекци-

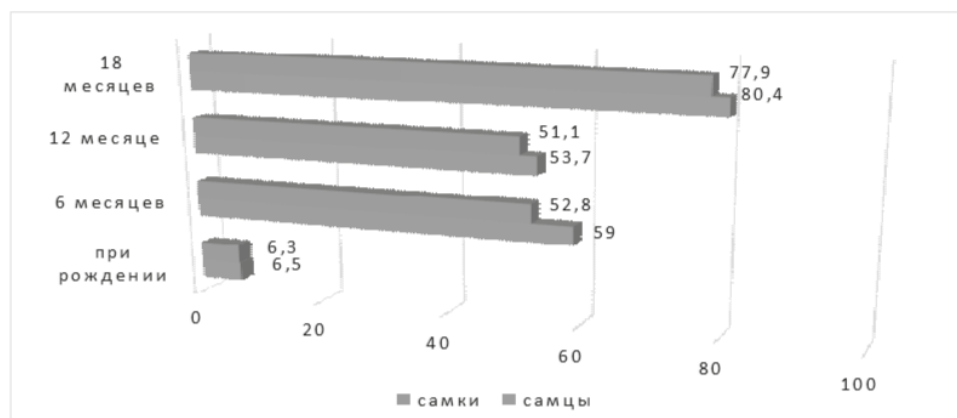


Рис. 1. Динамика живой массы оленей, кг

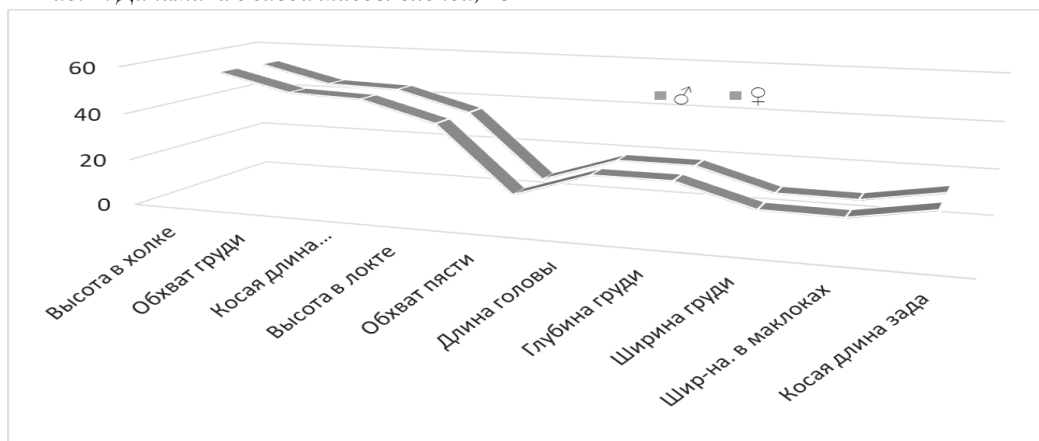


Рис. 2. Результаты промеров у телят при рождении, см

онного процесса при разведении данного вида сельскохозяйственных животных.

Северных оленей ненецкой породы относят к пастбищным, зрелорождающимся животным. Массовый отел маток приходится на май, телята появляются на свет часто на снегу, при минусовых температурах, но уже через 5-6 часов после рождения оленёнок может следовать за матерью. Возрастом, когда домашние северные олени достигают половой зрелости и способны участвовать в размножении, принято считать 18 месяцев [4]. Для северных оленей важнейшей особенностью постнатального роста является сезонность весовых и линейных показате-

лей роста и развития: максимальные в бесснежный период и минимальные в снежный. Такие колебания сопровождаются снижением упитанности, перестройкой физиологического состояния северных оленей всех возрастов, что связано с низкой доступностью кормов в сочетании с экстремальными климатическими условиями в снежный период. В особо неблагоприятные сезоны снижение живой массы оленей может достигать 26–27%. Наиболее тяжелой для молодняка является первая зимовка, приходящаяся на период от шести- до двенадцатимесячного возраста. В дальнейшем взрослый северный олень становится более устойчивым

Таблица 1

Динамика и абсолютный прирост живой массы у домашних северных оленей в зависимости от возраста, кг

Возраст, мес.	Самцы				Самки			
	При рождении	6	12	18	При рождении	6	12	18
n	69	30	30	30	69	30	30	30
lim	4,6–8,2	48-69	44-63	74-97	4,1-7,9	41-62	42-58	63-91
M±m	6,5±0,1	59,0±0,6	53,7±4,7	80,4±9,7	6,3±0,1	52,8±0,7	51,1±3,4	77,9±0,6
M ₂ -M ₁	-	52,5	-5,3	26,7	-	46,5	-1,7	26,8

к экстремальным зимним условиям, но значительные сезонные колебания упитанности и живой массы по сезонам года наблюдаются у него до конца жизни. Необходимостью для организма быть готовым к предстоящей зимовке объясняется исключительно высокая энергия роста северных оленей в первые месяцы жизни, которая относится к эволюционно закрепленным биологическим особенностям вида *Rangifer tarandus*[5].

Проведенный нами анализ литературы дает основание отнести северного оленя к скороспелым животным с высоким уровнем формирования мясной продуктивности [6,7,8,9,10]. Этот вывод имеет значительную практическую значимость, поскольку в северном оленеводстве повышение мясной скороспелости животных является приоритетным фактором интенсификации отрасли. Вместе с тем, решить данную задачу невозможно без знаний основных закономерностей индивидуального развития северных оленей, формирования мясных качеств животных в процессе онтогенеза. Практика работы оленеводческих хозяйств показывает, что основной мотивацией для повышения доли молодняка в убойном контингенте, являются как низкая себестоимость телятины (в 2-5 раз ниже себестоимости мяса взрослых оленей), так и возможность нагула молодняка без значительного потребления дефицитного лишайникового корма (ягеля) на тундровых пастбищах в

летний период. Последний фактор, в свете делихинизации оленьих пастбищ Арктической зоны [11], особенно важен. Поскольку прирост доли телят напрямую связан с наличием маток в стаде, для товарных оленеводческих хозяйств было рекомендовано максимальное увеличение процента маток [12,13,14]. В XX в. доля маток в стадах достигала в среднем 61%,максимально – 70%. Вместе с тем, исследования ученых Магаданского зонального НИИСХ Северо-Востока и университета г. Фербенкса штата Аляска [15,16,17], показали, что без максимальной сохранности молодняка и его высокой живой массы при убое увеличение доли маток не дает ожидаемого экономического эффекта.

Новорожденные телята при сравнении с взрослыми оленями относительно более высоконоги, имеют короткое, неглубокое и узкое туловищем, с непропорционально большой головой. В дальнейшем линейный рост частей тела северного оленя в разные возрастные периоды идет с неодинаковой скоростью, что приводит к изменению пропорций телосложения[18]. Особенности пропорций и формирования телосложения оленей в течение первых шести месяцев подчеркивают линейные значения промеров отдельных частей тела. Установлено, что промеры телят в данном возрасте составляют от 66 до 88% от величины промеров 5 –летних животных.

Если сравнить рост скелета крупного

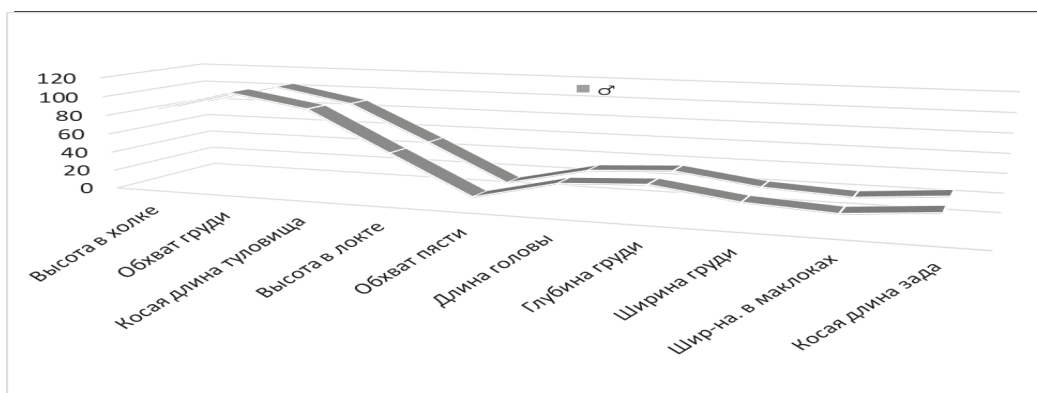


Рисунок 3. Промеры телят в 6 мес. возрасте, см

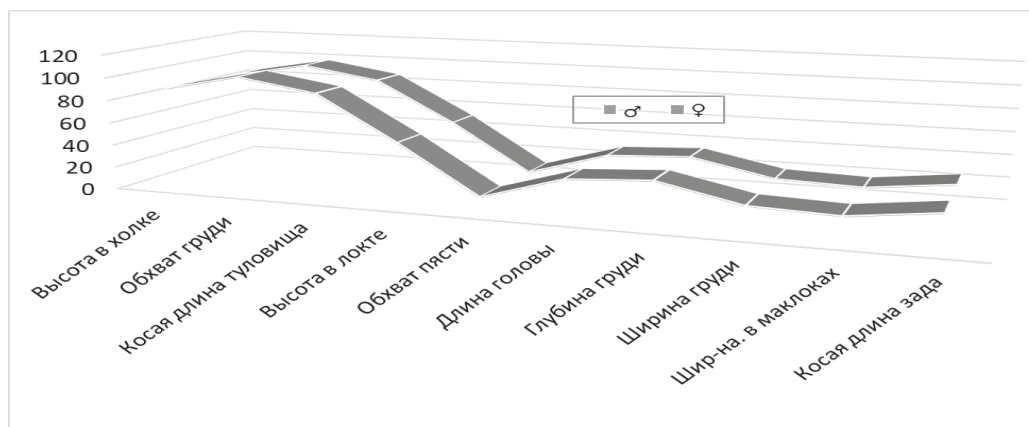


Рисунок 4. Промеры телят в 12 мес. возрасте, см

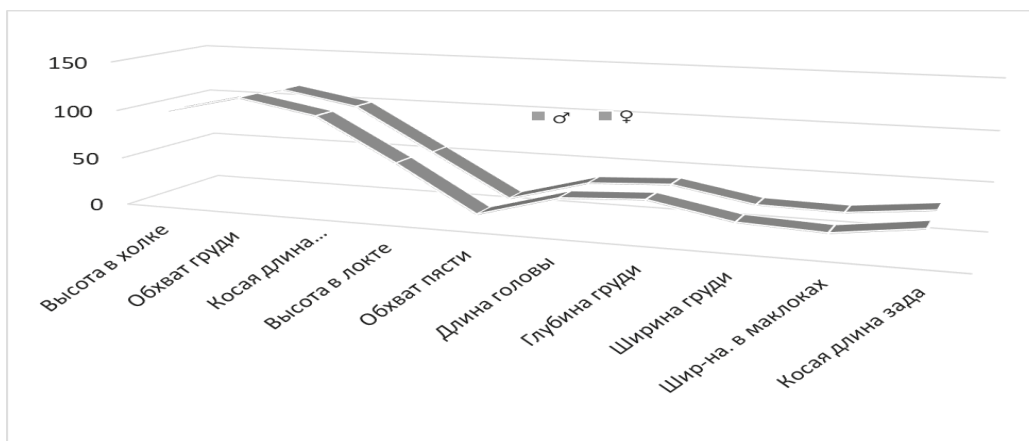


Рисунок 5. Промеры телят в 18 мес. возрасте, см

рогатого скота и северных оленей, окажется, что у теленка крупного рогатого скота при рождении осевой и периферический отделы скелета находятся в крайних соотношениях[19]. При этом осевой отдел скелета составляет 40%, а периферический - 60%. Но к годовалому возрасту данное соотношение уравнивается. В дальнейшем относительная массовая доля осевого отдела скелета нарастает и соответственно уменьшается доля периферического скелета: к взрослому состоянию животных осевой отдел скелета достигает 54%, а периферический - 46%. Совершенно иная закономерность обнаруживается в росте скелета северного оленя: в возрасте 5 лет происходит выравнивание осевого и периферического отделов. Данная закономерность характерна для линейного роста скелета как самцов, так и для самок. Её следует считать следствием адаптации северных оленей к жизни в условиях круглогодичного пастбищного содержания. Большая развитость костей конечностей по сравнению с туловищем придает оленям способность быстро бегать, совершать большие переходы сезонного или производ-

ственного характера и является приспособительной особенностью, способствующей сохранению вида [20].

Цель исследования – изучить особенности роста и развития молодняка северных оленей ненецкой породы от рождения до возраста половой зрелости.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полевые исследования были проведены в племенных хозяйствах полуострова Ямал (МУП «Панаевское») и Полярного Урала (ОАО «Салехарское») Ямало-Ненецкого автономного округа в 2008 - 2018 гг.

Объектом исследования являлись домашние северные олени ненецкой породы.

Методы исследований - определение живой массы и линейных размеров тела оленей при рождении, в 6-, 12- и 18 - мес. возрасте по общепринятым в зоотехнии методам индивидуального взвешивания и измерения животных. На основании 10 промеров тела были вычислены 10 индексов телосложения и выведены экстерьерные профили самцов и самок. Всего было обследовано 162 оленя.

Результаты исследований были обра-

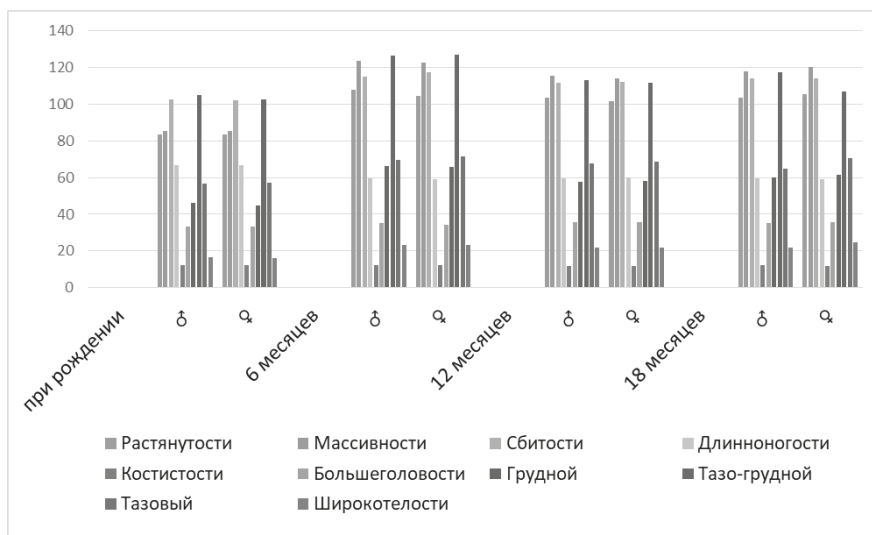


Рисунок 6. Индексы телосложения северных оленей, %

ботаны статистически, с применением программы Microsoft Excel. [21]

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Важнейшим показателем роста и развития животных является абсолютный прирост их живой массы. Наши исследования показали, что прирост живой массы имеет прямую связь как с половой, так и с возрастной идентификацией оленей (Рисунок 1).

Из представлено рисунка видно, что средняя живая масса телят при рождении была практически идентичной у самцов и самок (6,3-6,5 кг). В дальнейшем мы наблюдали, что наибольший прирост живой массы телят наблюдается в первые 6 мес. постнатального развития: у самцов 52,5, у самок - 46,5 кг, что составляет соответственно 908% и 839% к живой массе при рождении. С 6- до 12-мес. возраста, приходящегося на снежный период выпаса, в исследованных группах оленей произошло падение абсолютных показателей живой массы до минусовых значений: у самцов -5,3 кг, у самок -1,7 кг, что составило соответственно 9 и 3,2% к осенней живой массе. В период с 12 до 18-месячного возраста по абсолютному приросту показатели самцов и самок оказались равными - 26,7 и 26,8 кг (табл.1).

Средние величины промеров тела у самцов и самок северных оленей ненецкой породы при рождении практически одинаковы (Рисунок 2). Самый интенсивный прирост величины всех промеров оленей наблюдался в возрасте от рождения до 6 мес., в так называемый, «молочный период».

В возрасте 6 мес. разница в линейных размерах оленей по половому признаку не превысила 3-4% (Рисунок 3).

В период первой зимовки до 12 месяцев прирост абсолютной величины наблюдался по промерам, связанным с ростом скелета: высота в холке, высота в локте, длина головы, глубина груди, косая длина зада (Рисунок 4).

Промеры косая длина туловища, обхват пясти, ширина бедра в маклоках остались практически без изменения. Промеры, связанные с развитием мышечной массы

животного: обхват и ширина груди показали снижение величин на 4,7-11,8% по отношению к показателям в 6-мес. возрасте; такая динамика линейных размеров тела свойственна как самцам, так и самкам.

Следующий возрастной период от 12 до 18 мес. характеризуется значительным приростом всех промеров у исследуемых оленей: максимально в обхвате пясти - 16,8%, минимально в глубине груди - 10,7% (Рисунок 5). В 18-месячном возрасте самцы превосходили самок по высоте в локте - на 5,3%, по остальным промерам разница не превысила 4%. Сравнение 10 индексов телосложения у животных представлено на Рисунке 6.

Можно отметить, что в 6 - и 18 - мес. возрасте основные пропорции телосложения близки, что свидетельствует о высокой скорости формирования породного фенотипа у молодняка домашних северных оленей ненецкой породы. Сравнение индексов телосложения не выявило признаков полового диморфизма ни по одному из них, кроме индекса тазового, который во все возрастные периоды был выше у самок. Обращает внимание заметное превосходство самок над самцами по индексу широкотелости в 18- мес. возрасте, что связано с лучшим развитием в ширину тазовой области у первых.

В материал по результатам ранее проведенных нами исследованиях было отмечено, что коэффициент наследуемости живой массы матерей телятами в 6-месячном возрасте, довольно низок: у самцов 6,0%, у самок 3,5% [22].

На основании выше сказанного, можно констатировать, что при проведении селекционно-пламенной работу в хозяйствах значительно эффективнее отбор оленей по живой массе в 6-мес. возрасте: коэффициент повторяемости данного показателя в 18-мес. возрасте у самцов составил 23,1%, у самок 40,0% при достоверности $P < 0,01$. Очевидно, что высокое значение данного коэффициента сохраняется у животных в возрасте 2,5 года: у самцов 65,8%, у самок 27,0%.

ВЫВОДЫ

У телят домашних северных оленей средняя живая масса при рождении практически не зависит от пола. Максимальная прирост живой массы у телят наблюдается в первые 6 месяцев постнатального развития: у самцов он составил 52,5, у самок - 46,5 кг. С 6 до 12-мес. возраста, приходящегося на период зимовки, в исследованных группах оленей произошло падение абсолютных показателей прироста живой массы до минусовых значений: у самцов -5,3 кг, у самок -1,7 кг. В период с 12 до 18-мес. возраста по абсолютному приросту показатели самцов и самок оказались равными.

Скорость роста и развитие молодняка оленей в период от рождения до 6 - мес. возраста не зависели от пола животного: по всем относительным показателям линейного роста статей тела существенной разницы между самцами и самками не обнаружено ни визуально, ни инструментально. В период первой зимовки прирост абсолютной величины наблюдался по промерам, связанным с ростом скелета: высота в холке, высота в локте, длина головы, глубина груди, косая длина зада. Промеры косая длина туловища, обхват пясти, ширина в маклоках остались практически без изменения. Промеры, связанные с развитием мышечной массы животного, показали снижение абсолютных величин по отношению к показателям в 6 -месячном возрасте. Такая динамика линейных размеров тела свойственна как самцам, так и самкам. Возрастной период от 12 до 18 месяцев характеризуется значительным новым ростом линейных величин тела у исследуемых оленей, однако разница почти по всем промерам не превысила 4%. Сравнение 10 индексов телосложения у животных показало, что в 6 - и 18 - мес. возрасте основные пропорции телосложения близки, что свидетельствует о высокой скорости роста и развития молодняка домашних северных оленей. Сравнение индексов телосложения не выявило признаков полового диморфизма ни по одному из них, кроме индекса тазового, который во все возрастные периоды

был выше у самок и индекса широкотелости в 18-мес. возрасте.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.

Оценка по собственному фенотипу остается главной и наиболее доступной в северном оленеводстве, при этом наиболее эффективен отбор по живой массе и линейным размерам оленей в 6-месячном и 18-месячном возрасте, при средней и высокой повторяемости признака. В этом возрасте рекомендуется проводить племенную оценку молодняка северных оленей по указанным признакам наиболее эффективна.

FEATURES OF THE GROWTH AND FORMATION OF THE PHYSIQUE OF NENETS REINDEER FROM BIRTH TO PUBERTY.

A. A.Yuzhakov, Doctor of Agricultural Sciences, Chief Researcher

K.A. Laishev, Doctor of Veterinary Sciences, full member of of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher

ABSTRACT

In the Yamalo-Nenets Autonomous District were studied 169 heads of Nenets deer from birth to 18 months of age. The maximum rate of weight gain of live weight of calves is observed in the first 6 months of postnatal development and has sexual differentiation: in males it was 52.5, in females - 46.5 kg. From 6 to 12 months of age, which falls during the wintering period, in the studied groups of deer there was a drop in absolute indicators of live weight gain to minus values: males -5.3 kg, females -1.7 kg. In the period from 12 to 18 months of age, the absolute growth rates of males and females turned out to be equal. The rate of linear growth and the formation of the physique of young deer in the period from birth to 6 months of age, no significant difference between males and females was found either visually or instrumentally. During the first wintering period, an increase in absolute value was observed by measurements associated with the growth of the skeleton: height at the withers, height at the elbow, head length, chest depth, oblique length of the butt. The age period from 12 to 18 months is characterized by a significant increase in linear body sizes in the studied deer, but the

difference in almost all measurements did not exceed 4%. A comparison of 10 indices of physique in animals showed that at 6 and 18 months of age, the main proportions of the physique are close, which indicates a high rate of formation of the physique in young domestic reindeer. A comparison of the physique indices revealed no signs of sexual dimorphism for any of them, except for the pelvic index, which was higher in females at all age periods and the broad-bodied index at 18 months of age.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Калитин Р.Р. Современное состояние, проблемы северного домашнего оленеводства и пути их решения // Российская Арктика. 2021. № 15. С. 28-39. DOI:10.24412/2658-4255-2021-4-28-39
2. Южаков А.А., Романенко Т.М., Лайшев К.А. Феногеографическая изменчивость северных оленей ненецкой породы // Известия СПбГАУ. -2017.-№2 (47).-С.115-122
3. Доцев А.В., Романенко Т.М., Харзинова В.Р., Соловьева А.Д., Лайшев К.А., Брем Г., Зиновьева Н.А. Фенотипические и генотипические особенности популяции северного оленя ненецкой породы // Сельскохозяйственная биология. – 2017 – т. 52. – №6. – С. 1175-1183, DOI:10.15389/agrobology.2017.6/1175rus
4. Мухачев А.Д. Оленеводство. - М.: Агропромиздат, 1990., С. 114-115
5. Мак Ивен Е.Х. Адаптивное значение характера роста у некоторых видов оленей по сравнению с другими видами копытных // Зоол. журнал.,1975. Т. 54, Вып.8. С. 1221-1232.
6. Шубская Е.И. Развитие молодняка малоямальных оленей // Науч. тр. / НИИ поляр. земледелия. Сер. Оленеводство. Л., 1940. Вып. 14. С. 7-24.
7. Гульчак Ф.Я. Влияние условий содержания на развитие северных оленей // Советская зоотехния. – 1950. № 6. С. 68-85
8. Друри С.М. Возрастные и сезонные изменения живого веса северных оленей // Науч.тр./Ин-т морфологии животных им. А.Н. Северцова. М, 1960. Вып.31.–С.175-183
9. Бороздин Э.К. Формирование мясности у северных оленей // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 1974. №6. – С.48-53
10. Южаков А.А. Мясная скороспелость северных оленей // Зоотехния. №7 - 1990. - С. 33-34.
11. Липски С.А. Состояние оленьих пастбищ в Арктической зоне Российской Федерации, факторы их деградации и меры по улучшению ситуации // Известия высших учебных заведений. Геодезия и аэро съемка.– 2018– Т. 62–№6 – С. 695-702 DOI: 10.30533/0536-101X-2018-62-6-695-702
12. Дьяченко Н.О. О структуре стада в северном оленеводстве // Науч. – техн. бюл. / НИИ сел. хоз-ва Крайнего Севера. – 1957. №3. – С. 4-6.
13. Преображенский Б.В. Повышение процента маток в стадах — важнейший резерв увеличения выхода оленеводческой продукции // Магаданский оленевод. 1966. Вып. 16. С. 15–17.
14. Мухачев, А.Д. Племенная работа в северном оленеводстве: методические рекомендации / ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1988. – 118 с.
15. Arobio E.L. Optimum herd structure in Alaskareindeer herds // Agroboreal. 1981. – V.13. – P. 32-37.
16. Тришин М.К. Математическая оптимизация структуры стада оленей: метод. рекомендации // ВАСХНИЛ Сиб.отд., 1984. 70 с.
17. Prichard A., Finstad G. Modeling productions and income of reindeer herds // Agroboreal. - 1999. -31, - №2. -V. 14-15.
18. Мухачев А.Д. Морфологические особенности и мясная продуктивность северных оленей Полярного Урала: Дис ... канд. биол. наук / ВСХИЗО. — 1968.
19. Левантин Д.Л. Теория и практика повышения мясной продуктивности в скотоводстве. М.: Колос, 1966. 408 с.
20. Барадиев Б.Н. Некоторые морфологические и биологические особенности аянских оленей // Автореф. дис...канд. с.-х. наук. Л.,1969. 16 с.
21. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. М.: Колос. 1969. – 256 с.
22. Южаков А.А. Породный состав и проблемы селекции домашних северных оленей. Генетика и разведение животных. // Генетика и разведение животных. 2018., (1), С. 96-101.20.
23. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. М.: Колос. 1969. – 256 с.

УДК: 611.61:636.4-053

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.112

АНАТОМИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРОЕНИЯ ПОЧЕК У СВИНЕЙ ПОРОДЫ ЙОРКШИР В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Пидченко Р.Д. – асп. каф. анатомии животных; Щипакин М.В. – д.в.н., доц. каф. анатомии животных (Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины)

Ключевые слова: почки, топография, анатомия, свинья, масса, длина, ворота. **Keywords:** kidneys, kidneys, topography, anatomy, pig, weight, length, gate.



РЕФЕРАТ

Порода свиней йоркшир была выведена в 19 веке английским фермером Джозефом Тулей и представлена на сельскохозяйственной выставке в Виндозе в 1851 году. Свиноводы сразу же оценили данную породу по заслугам по ее спокойному нраву и неприхотливому образу жизни, кормлению и содержанию. Название породы фермер Джозеф Тулей решил присвоить сразу, а в частности связать ее со своим графством - Йоркшир. Йоркширская свинья стала результатом скрещивания представителей белой лестерской и китайской и английской длинноухой. Фермер Джозеф Тулей решил вывести новую беконную породу, что стало целью его жизни и принесло ему славу и внушительный доход. В Россию поросята йоркшир были завезены только послевоенные годы и сразу стали довольно популярны. В настоящее время данная порода свиней занимает четвертое место в мире по распространенности и популярности. В Российской Федерации насчитывается около 1,5 миллионов особей данной породы свиней.

В настоящее время очень широко распространены заболевания свиней, связанные с мочевыделительным аппаратом. Причинами данной патологии могут послужить инфекционные микроорганизмы, травмы различной этиологии, нарушение обмена веществ и сосудистого аппарата органов мочеполовой системы. Это может приводить к возникновению таких заболеваний как нефрит, нефроз, пиелонефрит, уретерит, цистит. Без знания анатомо-топографических особенностей строения органов мочевыделительной системы проблематично диагностировать заболевания и патологии, а также проводить своевременное лечение. Целью нашего исследования явилось – изучить анатомические закономерности строения почек у свиней породы йоркшир в возрастном аспекте. Материалом для проведения исследования послужили три возрастные группы свиней – новорожденные 1-7 дней (ранний неонатальный период); поросята 10-14 дней (неонатальный период); поросята 20-28 дней (поздний неонатальный период) массой от 2000 до 3500 г. Для достижения поставленной задачи использовали комплекс традиционных анатомических методов исследования: тонкое анатомическое препарирование, фотографирование и морфометрия. При исследовании было установлено, что почки у свиней породы йоркшир расположены в ретроперитонеальном пространстве. Топографически правая и левая почки располагаются на одном уровне под 1-4 поясничными позвонками. Почки самцов поросят породы йоркшир по абсолютным и относительным показателям значительно крупнее и больше, чем у самок. При исследовании также установили, что максимальный рост почек у свиней породы йоркшир в наблюдаемом периоде составил от 10-14 до 20-28 дневного возраста.

ВВЕДЕНИЕ

Порода свиней йоркшир была выведена в 19 веке английским фермером Джозефом Тулей и представлена на сельскохозяйственной выставке в Виндозе в 1851 году. Свиноводы сразу же оценили данную породу по заслугам ее спокойному нраву и неприхотливому образу жизни, кормлению и содержанию. Название породы фермер Джозеф Тулей решил присвоить сразу, а в частности связать ее со своим графством - Йоркшир. Йоркширская свинья стала результатом скрещивания представителей белой лестерской и китайской и английской длинной. Фермер Джозеф Тулей решил вывести новую беконную породу, что стало целью его жизни и принесло ему славу и внушительный доход. В Россию поросята йоркшир были завезены только послевоенные годы и сразу стали довольно популярны. В настоящее время данная порода свиней занимает четвертое место в мире по распространенности и популярности. В Российской Федерации насчитывается около 1,5 миллионов особей данной породы свиней.

В настоящее время очень широко распространены заболевания свиней, связанные с мочевыделительным аппаратом. Причинами данной патологии могут послужить инфекционные микроорганизмы, травмы различной этиологии, нарушение обмена веществ и сосудистого аппарата органов мочеполовой системы. Это может приводить к возникновению таких заболеваний как нефрит, нефроз, пиелонефрит, уретрит, цистит. Без знания анатомических закономерностей строения органов мочевыделительной системы проблематично диагностировать заболевания и патологии, а также проводить своевременное лечение. Целью нашего исследования явилось – изучить анатомические закономерности строения почек у свиней породы йоркшир в возрастном аспекте [1,2,3,4,5,6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный универ-

ситет ветеринарной медицины». Кадаверный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ со свиноводческого комплекса «Идаванг Агро» д. Нурма, Тосненского района Ленинградской области. Объектами для проведения данного исследования послужили две возрастные группы, согласно периодизации жизни свиней (Желев В., 1976; D.C. Blood, 1988; Кудряшов А.А., 1992) – новорожденные 1-7 дней (ранний неонатальный период); поросята 10-14 дней (неонатальный период); поросята 20-28 дней (поздний неонатальный период) массой от 2000 до 3500 г. Для достижения поставленной задачи использовали комплекс традиционных анатомических методов исследования: тонкое анатомическое препарирование, фотографирование и морфометрия. При описании анатомических терминов использовали Международную ветеринарную анатомическую номенклатуру (пятая редакция). Измерение проводили при помощи электронного штангенциркуля Stainless hardened с ценой деления 0,05 мм [7,8,9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате исследования установили, что у свиней породы йоркшир почка относится к гладкому многососковому типу. Топографически правая и левая почки располагаются на одном уровне под 1-4 поясничными позвонками. Она характеризуется полным слиянием корковой зоны, в результате чего наружная поверхность почки становится гладкой. На разрезе почке у данной породы свиней, мы установили, четко выделенные почечные пирамиды в количестве 10-12 штук, соответствующие числу почечных долек. Каждая пирамида имеет свой сосочек и окружена почечной чашечкой. Все почечные чашечки открываются короткими протоками в общую полость, а именно почечную лоханку, от которой начинается мочеточник. Почки у свиней породы йоркшир темно-бурого цвета, имеют бобовидную форму, длинные, сжаты с боков в дорсовентральном направлении из-за воздействия конуса ободочной кишки.

Снаружи почки у данной породы свиней покрыты плотной фиброзной капсулой, которая рыхло соединяется с паренхимой почки. При исследовании установили, что в области ворот почек фиброзная капсула входит во внутрь органа и заканчивается в хорошо выраженной почечной лоханке. Сверху фиброзной капсулы, почка окружена хорошо развитой жировой капсулой, а с вентральной поверхности еще и серозной оболочкой. Внутренняя поверхность почек несет на себе углубление – ворота почек, благодаря которым, в нее входят нервы и сосуды и выходят вены и мочеточники. В глубине ворот расположена почечная полость, в которой помещается почечная лоханка.

При проведении морфометрии у поросят породы йоркшир было установлено, что вентрально от правой почки располагается поджелудочная железа, а также двенадцатиперстная, ободочная и тощая кишки. Краниальный конец соприкасается с долями печени. Ворота левой и правой почек, располагаются в средней трети органа. От левой почки простирается латеродорсально двенадцатиперстная кишка.

Длина правой почки у самцов в возрастной группе 1-7 дней в среднем составила $4,12 \pm 0,41$ см, ширина на уровне ворот почек – $1,90 \pm 0,20$ см, на уровне краниального конца – $1,66 \pm 0,70$ см, каудального – $1,61 \pm 0,16$ см. Длина левой почки у самцов в возрастной группе 1-7 дней в среднем составила $3,93 \pm 0,39$ см, ширина на уровне ворот почек – $2,42 \pm 0,24$ см, на уровне краниального конца – $1,64 \pm 0,16$ см, каудального – $1,58 \pm 0,16$ см. Аналогичные измерения подвергнуты и самки, в результате установлено, что длина правой почки у самок в возрастной группе 1-7 дней в среднем составила $3,98 \pm 0,40$ см, ширина на уровне ворот почек – $1,74 \pm 0,17$ см, на уровне краниального конца – $1,48 \pm 0,15$ см, каудального – $1,41 \pm 0,14$ см. Длина левой почки у самок в возрастной группе 1-7 дней в среднем составила $3,84 \pm 0,38$ см, ширина на уровне ворот почек – $2,24 \pm 0,22$ см, на уровне краниального конца – $1,49 \pm 0,15$ см, ка-

удального – $1,43 \pm 0,14$ см. Абсолютная масса почки у самцов – $2,00 \pm 0,20$ г, у самок – $1,95 \pm 0,10$ г. Относительная почечная масса $0,13\%$ у самцов, $0,13\%$ у самок.

Длина правой почки у самцов в возрастной группе 10-14 дней в среднем составила $4,86 \pm 0,49$ см, ширина на уровне ворот почек – $2,57 \pm 0,26$ см, на уровне краниального конца – $2,18 \pm 0,22$ см, каудального – $2,14 \pm 0,21$ см. Длина левой почки у самцов в возрастной группе 10-14 дней в среднем составила $4,8 \pm 0,48$ см, ширина на уровне ворот почек – $2,68 \pm 0,27$ см, на уровне краниального конца – $2,23 \pm 0,22$ см, каудального – $2,16 \pm 0,21$ см. Длина правой почки у самок в возрастной группе 10-14 дней в среднем составила $4,77 \pm 0,47$ см, ширина на уровне ворот почек – $2,51 \pm 0,25$ см, на уровне краниального конца – $2,16 \pm 0,21$ см, каудального – $2,14 \pm 0,21$ см. Длина левой почки у самок в возрастной группе 10-14 дней в среднем составила $4,74 \pm 0,47$ см, ширина на уровне ворот почек – $2,6 \pm 0,26$ см, на уровне краниального конца – $2,17 \pm 0,22$ см, каудального – $2,10 \pm 0,20$ см. Абсолютная масса почки у самцов – $6,00 \pm 0,60$ г, у самок – $5,95 \pm 0,50$ г. Относительная почечная масса $0,24\%$ у самцов, $0,27\%$ у самок.

Длина правой почки у самцов в возрастной группе 20-28 дней в среднем составила $7,77 \pm 0,77$ см, ширина на уровне ворот почек – $4,11 \pm 0,41$ см, на уровне краниального конца – $3,70 \pm 0,37$ см, каудального – $3,59 \pm 0,35$ см. Длина левой почки у самцов в возрастной группе 20-28 дней в среднем составила $7,68 \pm 0,78$ см, ширина на уровне ворот почек – $4,39 \pm 0,43$ см, на уровне краниального конца – $3,67 \pm 0,36$ см, каудального – $3,67 \pm 0,36$ см. Длина правой почки у самок в возрастной группе 20-28 дней в среднем составила $7,63 \pm 0,76$ см, ширина на уровне ворот почек – $4,09 \pm 0,40$ см, на уровне краниального конца – $3,56 \pm 0,36$ см, каудального – $3,46 \pm 0,35$ см. Длина левой почки у самок в возрастной группе 20-28 дней в среднем составила $7,86 \pm 0,79$ см, ширина на уровне ворот почек – $4,21 \pm 0,42$ см, на уровне краниального

конца – $3,61 \pm 0,36$ см, каудального – $3,6 \pm 0,36$ см. Абсолютная масса почки у самцов – $10,00 \pm 0,50$ г, у самок – $9,80 \pm 0,40$ г. Относительная почечная масса $0,29\%$ у самцов, $0,28\%$ у самок.

Морфометрические данные показывают, что в возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир, длина правой почки у самцов увеличивается в среднем в 1,17 раза по сравнению с поросятами 1-7 дней, ширина на уровне ворот почек в 1,35 раза, на уровне краниального конца – в 1,30 раза, каудального – в 1,32 раза. Длина левой почки у самцов увеличивается в среднем в 1,22 раза по сравнению с поросятами 1-7 дней, ширина на уровне ворот почек в 1,10 раза, на уровне краниального конца – в 1,35 раза, каудального в 1,36 раза. У самок этой же породы, длина правой почки увеличивается в среднем в 1,19 раза по сравнению с поросятами 1-7 дней, ширина на уровне ворот почек в 1,44 раза, на уровне краниального конца – в 1,45 раза, каудального – в 1,51 раза. Длина левой почки у самок увеличивается в среднем в 1,23 раза по сравнению с поросятами 1-7 дней, ширина на уровне ворот почек в 1,16 раза, на уровне краниального конца – в 1,45 раза, каудального – 1,46 раза.

Морфометрические данные показывают, что в возрастной группе поросят 20-28 дней породы йоркшир, длина правой почки у самцов увеличивается в среднем в 1,88 раза по сравнению с поросятами 1-7 дней, ширина на уровне ворот почек в 2,16 раза, на уровне краниального конца – в 2,22 раза, каудального – 2,22 раза. Длина левой почки у самцов увеличивается в среднем в 1,95 раза по сравнению с поросятами 1-7 дней, ширина на уровне ворот почек в 1,81 раза, на уровне краниального конца – в 2,23 раз, каудального – 2,32 раза. У самок этой же породы, длина правой почки увеличивается в среднем в 1,91 раза по сравнению с поросятами 1-7 дней, ширина на уровне ворот почек в 2,35 раза, на уровне краниального конца – в 2,40 раза, каудального – 2,45 раза. Длина левой почки у самок увеличивается в среднем в 2,04 раза по сравнению с

поросятами 1-7 дней, ширина на уровне ворот почек в 1,87 раза, на уровне краниального конца – в 2,42 раз, каудального – 2,51 раз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При исследовании было установлено, что почки у свиней породы йоркшир расположены в ретроперитонеальном пространстве. Топографически правая и левая почки располагаются на одном уровне под 1-4 поясничными позвонками. Почки самцов поросят породы йоркшир по абсолютным и относительным показателям значительно крупнее и больше, чем у самок. При исследовании также установили, что максимальный рост почек у свиней породы йоркшир в наблюдаемом периоде составил от 10-14 до 20-28 дневного возраста.

ANATOMICAL PATTERNS OF KIDNEY STRUCTURE IN YORKSHIRE PIGS IN THE AGE ASPECT . Pidchenko R. D.- post graduate student, Shchipakin M. V.- Doctor of Veterinary Science, Associate Professor

ABSTRACT

The Yorkshire pig breed was bred in the 19th century by the English farmer Joseph Tooley and presented at the agricultural exhibition in Windose in 1851. Pig breeders immediately appreciated this breed on merit for its calm disposition and unpretentious lifestyle, feeding and maintenance. Farmer Joseph Tuley decided to assign the name of the breed immediately, and in particular to link it with his county - Yorkshire. The Yorkshire pig was the result of crossing representatives of the white Leicester and Chinese and English long-eared. Farmer Joseph Tuley decided to breed a new bacon breed, which became the goal of his life and brought him fame and an impressive income. Yorkshire piglets were brought to Russia only in the post-war years and immediately became quite popular. Currently, this breed of pig ranks fourth in the world in terms of prevalence and popularity. There are about 1.5 million individuals of this breed of pigs in the Russian Federation. Currently, diseases of pigs associated with the urinary tract are very widespread. The causes of this pathology can be infectious microorganisms,

injuries of various etiologies, metabolic disorders and vascular apparatus of the organs of the urinary system. This can lead to the occurrence of diseases such as nephritis, nephrosis, pyelonephritis, urethritis, cystitis. Without knowledge of anatomical and topographic features of the structure of the organs of the urinary system, it is problematic to diagnose diseases and pathologies, as well as to carry out timely treatment. The purpose of our study was to study the anatomical patterns of kidney structure in Yorkshire pigs in the age aspect. The material for the study was three age groups of pigs - newborns 1-7 days (early neonatal period); piglets 10-14 days (neonatal period); piglets 20-28 days (late neonatal period) weighing from 2000 to 3500 g. To achieve this task, a complex of traditional anatomical research methods was used: fine anatomical dissection, photographing and morphometry. During the study, it was found that the kidneys of Yorkshire pigs are located in the retroperitoneal space. Topographically, the right and left kidneys are located at the same level under 1-4 lumbar vertebrae. The kidneys of male Yorkshire piglets are much larger and larger in absolute and relative terms than those of females. The study also found that the maximum kidney growth in Yorkshire pigs in the observed period ranged from 10-14 to 20-28 days of age.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Былинская, Д. С. Анатомия органов репродукции самки нутрии (*Myocastor coypus*) / Д. С. Былинская, Д. В. Васильев // От инерции к развитию: научно-инновационное обеспечение и актуальные проблемы ветеринарной медицины: Сборник материалов международной научно-практической конференции "От инерции к развитию: научно-инновационное обеспечение АПК", Екатеринбург, 18-19 февраля 2020 года. – Екатеринбург: Уральский государственный аграрный университет, 2020. – С. 47-48.

2. Былинская, Д. С. Методика двухсторонней ангиографии органов головы, головного мозга и шеи животных / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, Ю. Ю. Бартене-

ва, Д. В. Васильев // Современные проблемы и перспективы исследований в анатомии и гистологии животных, Витебск, 31 октября – 01 2019 года / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Самаркандский институт ветеринарной медицины. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины", 2019. – С. 5-6.

3. Зеленовский, Н. В. Анатомия и физиология животных: учебник / Н. В. Зеленовский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленовский; под общ. ред. Н.В. Зеленовского. – 3-е издание, стереотипное. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2019. – 368 с.

4. Зеленовский, Н. В. Анатомия и физиология животных: учебник для студентов образовательных учреждений среднего профессионального образования / Н. В. Зеленовский, А. П. Васильев, Л. К. Логинова. – 2-е издание, исправленное. – Москва: Академия, 2009. – 464 с.

5. Зеленовский, Н. В. Оригинальная методика инъекции артериальной системы евразийской рыси / Н. В. Зеленовский, Д. С. Былинская, В. В. Шедько // Иппология и ветеринария. – 2012. – № 1(3). – С. 148-151.

6. Зеленовский, Н. В. Практикум по ветеринарной анатомии: Учебное пособие для студентов ВУЗов / Н. В. Зеленовский, А. А. Стекольников, К. В. Племяшов. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2005. – 132 с.

7. Масленицын, К. О. Особенности венозного русла мочевого пузыря у коз англо-нубийской породы / К. О. Масленицын, В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: Материалы X юбилейной международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной году науки и технологий, Санкт-Петербург, 23-24 но-

ября 2021 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. – С. 230-231.

8.Рядинская, Н. И. Микроциркуляторное русло корковой зоны почек байкальской нерпы / Н. И. Рядинская, Т. Е. Гладкая // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии : Материалы IV международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Победы в Великой Отечественной войне (1941-1945гг.) и 100-летию со дня рождения А.А. Ежевского, Иркутск, 27 мая 2015 года – 29 2017 года / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации; Департамент научно-технологической политики и образования; ФГБОУ ВО "Иркутский государственный аграрный университет им. А.А.

Ежевского" и др.. – Иркутск: Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, 2015. – С. 256-263.

9.Щипакин, М. В. Универсальные методики изучения артериальной системы животных / М. В. Щипакин, Ю. Ю. Бартечева, Д. С. Былинская, Д. В. Васильев, А. С. Стратонов, В. А. Хватов // Актуальные проблемы ветеринарной морфологии и высшего зооветеринарного образования: Сборник трудов Национальной научно-практической конференции с международным участием, Москва, 14–16 октября 2019 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2019. – С. 66-70.

УДК.636.082.2.

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.117

ВЛИЯНИЕ КОНТРОЛИРУЕМЫХ ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ ФАКТОРОВ НА ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ КОРОВ – ПЕРВОТЕЛОК СЫЧЕВСКОЙ ПОРОДЫ

Е. А. Прищеп- ст. науч. сотр. лаборатории, Д. В. Леутина- ст. науч. сотр. лаборатории ,
А. С. Герасимова- науч. сотр. лаборатории
ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур»

Ключевые слова: воспроизводительные качества, факторы, инбридинг, сычевская порода, межотельный период. **Keywords:** reproductive qualities, factors, close inbreeding, sychevskaya breed, milk production, period between the calvings.



РЕФЕРАТ

Воспроизводительную способность крупного рогатого скота можно повысить путем селекции. Изучено влияния контролируемых изменяющихся факторов на воспроизводительную способность первотелок сычевской породы с учетом коэффициента инбридинга с целью совершенствования селекционного процесса. В селекционной работе с животными применяют два способа скрещивания: аутбридинг и инбридинг. Мерой генетических последствий инбридинга служит коэффициент инбридинга. Исследуемое поголовье коров – первотелок объединили в группы по коэффициенту инбридинга. Рассчитали межгрупповые и внутригрупповые различия, силу влияния и достоверность у коров-первотелок методом дисперсионного анализа. Возраст первого отела в среднем у инбредных коров составил 30 месяцев, превышен у животных с коэффициентом – 12,5 и

выше. Результативность кратности осеменений в группах к первой лактации отличная (1,4-1,5) и хорошая при тесном инбридинге (1,7). У первотелок с коэффициентом инбридинга 0,1-0,59 % средняя продолжительность межотельного периода, на 10 и 9 дней меньше, чем у животных при умеренном, близком и тесном родственном разведении. Индекс плодовитости у первотелок средний, кроме животных с тесным инбридингом. Результаты дисперсионного анализа в селекционной работе с факторами статистически значимы, но имеют неодинаковую альтернативную изменчивость. Для дальнейшей селекционной работы с учетом воспроизводительной способности животных необходимо ведение инбредного подбора в умеренных степенях. Так же следует учитывать достоверное влияние контролируемых факторов: как возраст первого отела, кратность осеменения, индекс плодовитости которые позволяют повысить эффективность селекционной работы.

ВВЕДЕНИЕ

Воспроизводительная способность крупного рогатого скота один из важных селекционируемых признаков. В молочном животноводстве воспроизводительная функция скота характеризуется не только с точки зрения размножения, но и как физиологически необходимый процесс. Селекция животных – это одна из форм эволюционного процесса, применяемая для роста интенсификации молочного скотоводства. Эффективность отрасли характеризуется уровнем продуктивности животных, которая зависит от многих факторов. На воспроизводительные качества животных оказывают влияние такие факторы, как физиологическое состояние животных, кормление, содержание, возраст первого отела, кратность осеменения и другие [1]. Для повышения молочной продуктивности и воспроизводительных свойств, необходимо селекционную работу вести с учетом практического влияния типов подбора [2]. В селекционной работе с животными применяют два способа скрещивания: аутбридинг (неродственное скрещивание) и инбридинг – скрещивание (родственное) внутри одной породы для сохранения значимых признаков в породе [3,4]. Главными особенностями использования инбридинга является его направленность и степень тесноты для закрепления в наследственности полученных положительных результатов селекционно-племенной работы [5]. Для анализа изменчивости признака под влиянием контролируемых изменяющихся факторов применяют дисперсионный анализ.

Цель исследований. Изучить влияние

контролируемых изменяющихся факторов на воспроизводительную способность коров-первотелок сычевской породы с учетом коэффициента инбридинга с целью совершенствования селекционного процесса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Для статистической обработки использовали данные зоотехнического учета из программы ИАС «Селэкс» Молочный скот (Разработчик «Плино» г. Санкт-Петербург), контролируемых изменяющихся факторов у коров – первотелок сычевской породы за 2018-2021 годы: родословную, возраст первого отела, кратность осеменения, межотельный период (МОП), в четырех племенных хозяйствах Смоленской области. Мерой генетических последствий инбридинга служит коэффициент инбридинга, который выражается в процентах (0-100). Коэффициент инбридинга рассчитан по формуле С. Райта - Д.А. Кисловского, показатель воспроизводительной способности $KBC = \text{МОП} / 365$, индекс плодовитости $ИП = 100 - (K + 2\text{МОП})$, где K – возраст коровы при первом отеле. Исследуемое поголовье коров – первотелок сгруппировали в группы: Fx1 = 0,1–0,59 % – отдаленный инбридинг 313 голов, Fx2 = 0,78–2,34 % – умеренный 232 головы, Fx3 = 3,13 – 8,01 % близкий 70 голов, Fx4 = 12,5 и выше тесный 62 головы и Fx5 = 0 % – нет (аутбридинг) 1509 голов. Статистическая обработка количественных показателей проведена по общепринятым формулам вариационной статистики с использованием пакета компьютерных программ

Таблица 1

Возраст первого отела и кратность осеменений

Коэффициент инбридинга (F _x),%	n	Возраст первого отела, месяцев	Кратность осеменений	
			к - 1 лактации	в - 1 лактации
0,1-0,59	313	29,3±0,2	1,4±0,1	1,9±0,1
0,78-2,34	232	30,3±0,3	1,5±0,1	2±0,1
3,13-8,01	70	29,4±0,5	1,5±0,1	2,2±0,2
12,5 и выше	62	34,8±0,8	1,7±0,1	2±0,2
итого	677	30,2±0,2	1,5±0,03	2±0,1
0	1509	31,6±0,1	1,5±0,02	2±0,03

Microsoft Office 2007. Межгрупповые и внутригрупповые различия, силу влияния и достоверность у коров-первотелок рассчитали методом дисперсионного анализа [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По возрасту первого отела и кратности осеменения коровы первотелки характеризуются следующими показателями (табл. 1). Возраст первого отела в среднем у инбредных коров составил 30 месяцев, меньше на 2 месяца, чем у аутбредных, у животных с коэффициентом инбридинга – 12,5 и выше (35 мес.) завышен. Следует отметить, что возраст коров при первом отеле может зависеть от условий выращивания телок, от качества спермы быка и технике искусственного осеменения. Кратность осеменений – число покрытий, которые потребовались для плодотворного осеменения. Результативность кратности осеменений в группах к первой лактации отличная (1,4-1,5) и хорошая при тесном инбридинге (1,7). На эффект оплодотворяемости частичное влияние оказывает физиологическое состояние коров, в частности послеродовой период. В первой лактации кратность осеменения низкая у животных с коэффициентом 3,13-8,01% и удовлетворительная в других группах. Межотельный период, как количественный признак, включает все случаи нарушения воспроизводительной способности. При нормальной плодовитости коров, коэффициент воспроизводительной способности равен единице, то есть когда от одной коровы ежегодно получа-

ют приплод. Показатели воспроизводительных качеств коров-первотелок представлены в таблице 2. У первотелок с коэффициентом инбридинга 0,1-0,59% средняя продолжительность межотельного периода, на 10 и 9 дней меньше, чем у животных при умеренном, близком и тесном родственном разведении. И в среднем на 15 дней меньше, чем у животных при аутбридинге. Данные по коэффициенту воспроизводительной способности (0,95-0,97) у коров с коэффициентом инбридинга сильно не отличаются и превышают на 0,02 % первотелок аутбредных. Индекс плодовитости коров, отражающий фактор плодовитость самки. Показатель этого фактора у первотелок средний (41-45), кроме животных с тесным инбридингом (39). Отсюда следует, что коэффициент инбридинга животных оказывает влияния на воспроизводительную способность.

Изменчивость воспроизводительной способности первотелок с коэффициентом инбридинга от контролируемых изменяющихся факторов (возраста первого отела, кратности осеменения, межотельного периода, коэффициента воспроизводительной способности и индекса плодовитости) рассчитали методом дисперсионного анализа. Число степеней свободы данных факторов (df) между группами 3, внутри групп 673 (табл. 3).

Межотельный период и коэффициент воспроизводительной способности в установленных градациях факторных признаков на воспроизводительные способности

Таблица 2

Показатели воспроизводительных качеств

Коэффициент инбридинга (F)	n	Межотельный период, дней	Коэффициент воспроизводительной способности	Индекс плодовитости
0,1-0,59	313	385,3±3,6	0,97±0,01	45±0,3
0,78-2,34	232	394,7±4,3	0,95±0,01	43,4±0,4
3,13-8,01	70	394,8±8,7	0,95±0,02	44,3±1
12,5 и выше	62	393,1±9,5	0,96±0,02	39±1
итого	677	390,2±2,5	0,96±0,01	43,8±0,2
0	1509	404,9±2,4	0,94±0,004	41,4±0,2

Таблица 3

Результаты дисперсионного анализа

Показатели	F расчетное	F критическое	Сумма квадратов между группами	Сумма квадратов внутри групп	Сила влияния
Возраст первого отела	31,06	2,62	1622,8	11719,9	13,84
Кратность осеменения к - 1 лактации	2,76		5,69	462,6	1,23
Кратность осеменения в - 1 лактации	1,19		5,77	1087,62	0,53
Межотельный период	1,11		14443,11	2923083	0,49
Коэффициент воспроизводительной способности	1,10		0,064851	13,12	0,49
Индекс плодовитости	17,7		1968,67	24891,7	7,9

влияние не оказали. Результаты дисперсионного анализа в селекционной работе с факторами статистически значимы, но имеют неодинаковую альтернативную изменчивость. Достоверное влияние на изменчивость воспроизводительных способностей в отдельном и совместном влиянии рассчитывается по критерию Фишера. Так как на выбранном уровне значимости (0,05) у факторов (возраст первого отела, кратность осеменения к 1 лактации, индекс плодовитости) F расчетное (31; 3,18) > F критическое (2,6), можно сделать вывод о достоверном влиянии их на воспроизводительную способность. Факторы: кратность осеменения в 1 лактации, межотельный период, коэффициент воспроизводительной способности

имеют недостоверное влияние. Сила влияния отмечена по возрасту первого осеменения (14%), индексу плодовитости (8%) и кратности осеменения к - 1 лактации (1%).

ВЫВОДЫ

Таким образом, данные по влиянию контролируемых изменяющихся факторов на воспроизводительную способность коров-первотелок сычевской породы с учетом коэффициента инбридинга показывают, что возраст первого отела в среднем у инбредных коров, меньше на 2 месяца, чем у аутбредных и завышен (35 мес.) у животных с тесным инбридингом. Результативность кратности осеменений к первой лактации отличная и хорошая при тесном инбридинге. В первой лакта-

ции кратность осеменения низкая у животных с коэффициентом 3,13-8,01 % и удовлетворительная в других подборах. Данные по коэффициенту воспроизводительной способности инбредных животных (0,95-0,97) сильно не отличаются и превышают на 0,02 % показатель аутбредных. Индекс плодовитости коров, отражающий фактор плодовитости самки средний (41-45), кроме животных с тесным инбридингом (39). Увеличение коэффициента инбридинга при разведении у животных до тесного, приводит к снижению воспроизводительных способностей. Статистически достоверное влияние у таких факторов, как возраст первого отела, кратность осеменения телок, индекс плодовитости, недостоверное влияние – кратности осеменения в 1 лактации, межотельного периода, коэффициента воспроизводительной способности. Изучение влияния контролируемых изменяющихся факторов на воспроизводительную способность сычевской породы скота позволит использовать ее генетический потенциал при качественном совершенствовании стад в хозяйствах Смоленской области.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ ФНЦ ЛК (тема № FGSS-2019-0012).

THE INFLUENCE OF CONTROLLED CHANGING FACTORS ON THE REPRODUCTIVE ABILITY OF THE FIRST-CALF COWS OF THE SYCHEVSKAYA BREED. E.A. Prishchep- senior researcher of the laboratory, D.V. Leutina, A.S. Gerasimova- laboratory researcher, FSBRI «Federal Research Center for Bast Fiber Crops»

ABSTRACT

The reproductive capacity of livestock can be increased by breeding. The influence of controlled changing factors on the reproductive ability of the Cows of the first calving the Sychevskaya breed was studied, taking into account the inbreeding coefficient in order to improve the breeding process. In breeding work with animals, two methods of crossing are used: outbreeding and inbreeding. A measure of the genetic

consequences of inbreeding is the inbreeding coefficient. The studied number of first-calf cows was grouped into groups according to the inbreeding coefficient. Calculated by the intergroups and intragroups differences, the strength of influence and reliability in the cows of first calving the method of variance analysis. The average age of the first calving in inbred cows was 30 months, overestimated in animals with a coefficient of 12.5 and higher. The effectiveness of the multiplicity of inseminations in groups by the first lactation is excellent (1.4-1.5) and good with close inbreeding (1.7). In first-born heifers with an inbreeding coefficient of 0.1-0.59%, the average duration of the period between the calvings is 10 and 9 days less than in animals with moderate, close and closely related breeding. The fertility index of the first heifers of the groups is average, except for animals with close inbreeding. The results of the analysis of variance in breeding work with factors are statistically significant, but have unequal alternative variability. For further breeding work, taking into account the reproductive ability of animals, it is necessary to conduct inbred selection in moderate degrees. It is also necessary to take into account the reliable influence of controlled factors: such as the age of the first calving, the multiplicity of insemination, the fertility index, which allow increasing the efficiency of selection work.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Макиевский В.М., Степанова Н.В. Использование современных систем воспроизводства стада // Материалы Всероссийской научно-практической конференции. Современные ресурсосберегающие технологии производства молока от теории к практике.-2018.- С.151-159
2. Герасимова А.С., Прищеп Е.А., Леутина Д.В., Татуева О.В. Влияние типов подбора и степени инбридинга на продуктивные качества в селекции молочного скота племзавода «Рыбковское» // Вестник аграрной науки. 2020.- № 2 (83).-С. 45-50.
3. Любимов А.И., Юдин В.М., Никитин К.П. Результаты использования родственного подбора в селекции молочного скота племенных заводов Удмурдской респуб-

лики и Свердловской области // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2015.- № 4.- С. 22-29.

4. Баранова Н.С., Баранов А.В., Подречнева И.Ю. Использование инбридинга при разведении заводских семейств костромской породы // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2016. - № 6 (55). - С. 51-55,- 2020.- №1 (22).-С. 8-10.

5. Недашковский И.С., Сермягин А.А.

Оценка влияния уровня инбридинга на молочную продуктивность и воспроизводительные качества коров голштинизированной популяции черно-пестрой породы // Молочное и мясное скотоводство. 2018.-№7.-С.17-22.

6. Меркурьева, Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных // Е.К. Меркурьева.- М.: 1970.- 424 с.

УДК 611.12:612.178:612.67

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.122

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ СЕРДЦА КРЫСЫ ПРИ СТАРЕНИИ (ПО ДАННЫМ ИММУНОГИСТХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ)

Чумасов Е.И. – профессор Кафедры биологии, экологии, гистологии Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины; Петрова Е.С. - ст.н.с. Лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;

Ключевые слова: старение, сердце, кровеносные сосуды, иннервация, иммуногистохимия. **Keywords:** aging, heart, blood vessels, innervation, immunohistochemistry

РЕФЕРАТ

Цель работы – исследовать проявления возрастных и патологических изменений в тканях различных отделов сердца крыс в возрасте 18-23 мес. Были использованы нейроиммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5, тирозингидроксилазу, синаптофизин, фактор Виллебранда и окраска толуидиновым синим для тучных клеток. Обнаружена корреляция между уровнем снижения интенсивности иннервации сердца и патологическими изменениями его тканей. В аортально-пульмональной области, предсердиях и желудочках выявлены деструктивные изменения нервных аппаратов, наличие лимфо-мононуклеарных инфильтратов и тучных клеток. Наряду с дегенерацией нервных аппаратов, выявлены реактивные и деструктивные изменения эндотелиоцитов артериол, обменных капилляров, частичная их гибель, увеличение числа и гипертрофия резервных синусоидных капилляров, выраженное повышение секреторной активности эндотелиоцитов и скопления пигментного материала в полости подаортального конуса.

ВВЕДЕНИЕ

Сердце животных и человека в норме и при патологии исследуется в течение многих десятилетий [3, 4, 9], однако вопросы нервно-тканевых и межклеточных взаимоотношений в околосердечной об-

ласти и в миокарде остаются малоизученными. В наших предыдущих исследованиях показано, что на поздних стадиях онтогенеза крысы наблюдается снижение иннервации тканей сердца, особенно это касается симпатической иннервации [7,



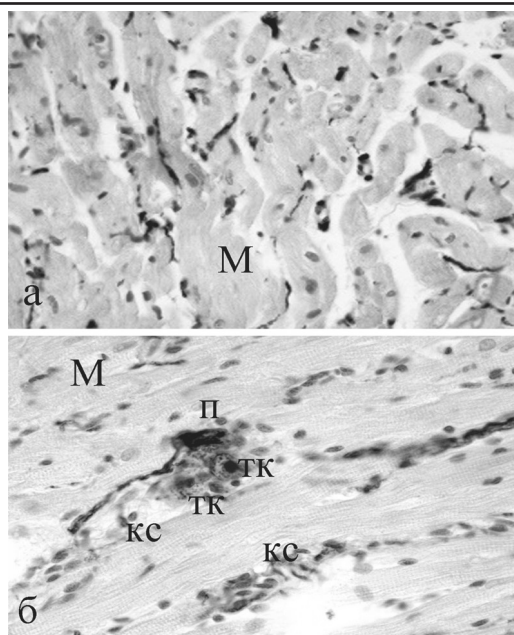


Рис.1. Изменения в сердце крысы (возраст 18-23 мес). а - дегенерирующие TH^+ терминали; б - нейродегенеративно-воспалительный очаг в ткани сердца на границе эпикарда и миокарда. М – миокард; КС - кровеносные сосуды; ТК - тучные клетки; П – глыбки пигмента. ИГХ реакция на тирозингидроксилазу, подкраска толуидиновым синим; Ув.: $\times 400$.

10]. В последние годы уделяется пристальное внимание проблеме изучения дисфункции эндотелия микроциркуляторного русла (МЦК) сердца при различных сердечно-сосудистых заболеваниях [5, 8]. При этом важная роль отводится клеточным механизмам «мультигранулярного экзоцитоза» - секреции эндотелиальными клетками различной молекулярной массы молекул белка свёртываемости крови (vWF), включая тельца Вейбеля-Палладе [13, 14]. Между тем исследования, посвященные морфологическим и функциональным, патологическим и возрастным изменениям нервных аппаратов и коронарных сосудов сердца в возрастном аспекте, немногочисленны [11], мало внимания уделяется изучению иммунных и воспалительных процессов, развивающихся в органе в возрастном аспекте [12].

Цель настоящей работы состояла в изучении изменений нервных аппаратов, состояния коронарных сосудов, наличия

воспалительных клеток в сердце старых животных с использованием иммуногистохимических методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на крысах Вистар в возрасте 3-4 и 18–23 мес (n=20). Исследование было одобрено ЛЭК ИЭМ (протокол № 3 от 30 ноября 2019 г.). Сердце крыс фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида [2]. Иммуногистохимические (ИГХ) реакции проводили на парафиновых срезах. Для изучения воспалительных клеток часть срезов окрашивали толуидиновым синим, для идентификации эндотелиоцитов использовали поликлональные кроличьи антитела к фактору Виллебранда (vWF) (Dako, Дания) [1]. Для исследования парасимпатических нервных структур применяли поликлональные кроличьи антитела к белку PGP 9.5 («Spring Bioscience», США) [Коржевский, 2013]; для изучения катехоламинергических симпатических

структур - поликлональные кроличьи антитела к тирозингидроксилазе (ТН) («Absam», Великобритания); для исследования синаптических терминалей использовали поликлональные кроличьи антитела к синаптофизину (Syn). Анализ гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа «Leica DM 750» («Leica», Германия) и цифровой камеры «Leica ICC 50» («Leica», Германия).
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный гистологический анализ препаратов сердца молодых и старых крыс показал, что в тканях сердца старых животных часто наблюдаются клеточные реакции, характеризующиеся признаками реактивных, дистрофических и патологических изменений, несвойственных для сердца интактных молодых животных. В большинстве случаев у старых животных на срезах сердца, окрашенных толуидиновым синим, в рыхлой соединительной ткани между аортой, легочным стволом, краниальной поллой веной, ветвями вагосимпатических стволов в окружении жировой клетчатки обнаруживаются очаговые лейкоцитарные инфильтраты. Они состоят из лимфоцитов, моноцитов/макрофагов и тучных клеток (ТК). С по-

мощью ИГХ реакций на белок PGP 9.5 и ТН вокруг и внутри лимфо-моноцитарных инфильтратов выявлены нервные аппараты: пучки нервных волокон, периваскулярные сплетения и терминальные сети варикозных аксонов с признаками реактивных и дистрофических изменений. Обращают на себя внимание тесные взаимоотношения лейкоцитов и ТК с варикозными аксонами, представляющими собой дистантные синапсы *en passant* (рис. 1), выявляемые с помощью антител к Syn и ТН. Следующей характерной особенностью сердца старых крыс являются структурные и функциональные изменения эндотелиальных клеток. У молодых интактных животных секреторная активность белка vWF в норме регулируется путём естественного мультигранулярного экзоцитоза, и ИГХ реакция на vWF не выражена. Гипериммунореактивность к белку vWF отмечена для старых животных и свидетельствует об изменении структурного и функционального состояния капилляров МЦР и коронарного кровообращения органа (рис. 2 а, б). С помощью ИГХ реакции на vWF в коронарных сосудах старых крыс постоянно наблюдаются выраженные признаки реактивных, дистрофических и патологиче-

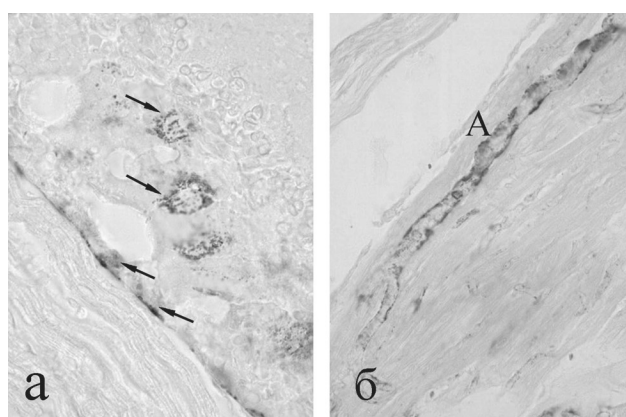


Рис 2. Иммунореактивные vWF⁺ эндотелиальные клетки из разных отделов сердца крысы в возрасте 23 мес. а – реактивные изменения эндотелиоцитов эндокарда желудочка; б – vWF-иммунореактивные эндотелиальные клетки артериолы (А) и сети неравномерно реактивных капилляров в миокарде сердца старой крысы. ИГХ реакция на vWF. Ув.: x400

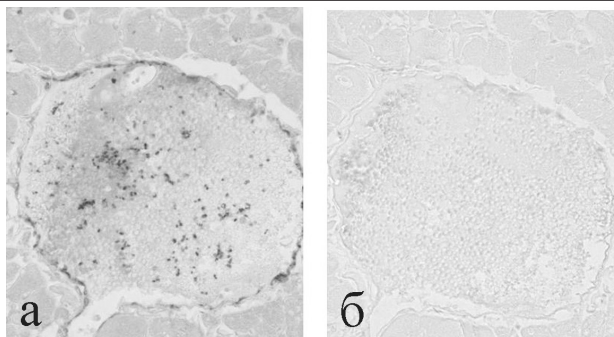


Рис. 3. Шаровидные лакуны, связанные с синусоидными капиллярами в миокарде старой крысы. ИГХ реакция на фактор Виллебранда (а), негативный контроль (б). Ув.: x100

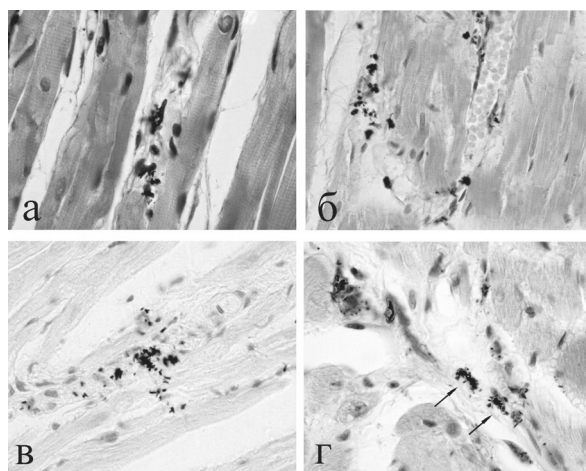


Рис. 4. Пигментные структуры в очагах, ассоциированных с коронарными сосудами, в сердце старой крысы. а – в межпредсердной перегородке; б, в – в миокарде правого желудочка; г – в левом желудочке. Стрелки – макрофаги, загруженные пигментом. Окраска толуидиновым синим (а, в); окраска ядерным прочным красным (б). ИГХ реакция на тирозингидроксилазу (г). Ув.: x400.

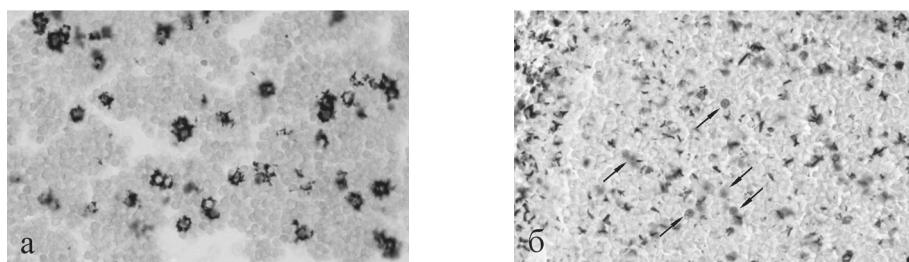


Рис. 5. Пигментные структуры в крови подаортального конуса старой крысы. а – пигментные включения в форменных элементах крови; б – палочковидные и гранулярные элементы среди плотной массы эритроцитов. Стрелки - ядра лейкоцитов. Окраска ядерным прочным красным. Ув.: x1000

ских изменений эндотелиоцитов. Они наблюдаются не только со стороны эндотелия интимы корня аорты, крупных и средних венечных артерий эпикарда, а также эндотелия синусоидных капилляров миокарда предсердий и желудочков. В миокарде старых животных, начиная с 18 мес возраста во многих случаях обнаруживается выраженное увеличение числа гипертрофически расширенных синусоидных капилляров, образование лакун или цистерн переполненных кровью (рис. 3). Установлено, что они выстланы измененными vWF+эндотелиоцитами, находящимися в состоянии повышенной секреторной активности. О чем свидетельствует, наличие большого количества белка - vWF+иммунореактивных гранул и агглютинированных тромбоцитов в крови венозных синусоидов и в полостях лакун (рис. 3). Часто в очагах гибели капилляров миокарда, выявляются различные клеточные компоненты: продукты распада катехоламинергических нервных волокон, моноциты/макрофаги, пигментированные палочковидные и гранулярные элементы (рис. 4). При сравнительном морфологическом анализе эти пигментные структуры в очагах гибели сосудов близки по размерам описанным на световом и ЭМ уровнях [11] секреторным органеллам белка свертываемости крови vWF. Важно отметить, что описанные участки дегенерации сосудов, вызванной деструктивными, патологическими и возрастными изменениями, содержащие пигментные структуры, локализованы, как правило, в интерстиции миокарда. Нами установлено, что в полости подаортального конуса сердца, в створках клапанов и в других отделах сердца у животных в процессе старения накапливается масса пигментных гранул, палочковидных телец и тромбов. Загруженные ими многочисленные макрофаги наблюдаются постоянно в крови полости подаортального конуса старых животных. Вопрос о наличии и источниках образования пигмента в тканях сердца животных и человека дискусионен. Основываясь на данных литературы, можно предположить, что опи-

санные нами в интерстиции миокарда пигментные структуры являются продуктом дегенерации эндотелиоцитов. У старых крыс массовые скопления этих пигментных структур наблюдались в подаортальном конусе (рис. 5). На основании полученных результатов авторы предполагают, что по мере старения животного в разных отделах сердца (под эндокардом, в интерстиции миокарда, в полостях венозных сосудов и артериального конуса сердца животных) кроме известных атерогенных продуктов (ЛПВП и ЛПНП, ионов Ca²⁺, кристаллов холинестеров) с возрастом постоянно накапливаются также пигментированные образования в виде зернистости и палочковидных структур, что может быть связано с дистрофическими изменениями эндотелия сосудов при старении.

ВЫВОДЫ

Настоящее исследование, проведенное с помощью нейроиммуногистохимических методов выявления белка PGP 9.5, тирозингидроксилазы, синаптофизина, фактора Виллебранда и окраски толуидиновым, показало корреляцию между уровнем снижения интенсивности иннервации сердца и патологическими изменениями его тканей. В аортально-пульмональной области, предсердиях и желудочках выявлены деструктивные изменения нервных аппаратов, наличие лимфо-моноклеарных инфильтратов и тучных клеток. Наряду с дегенерацией нервных аппаратов, выявлены реактивные и деструктивные изменения эндотелиоцитов артериол, обменных капилляров, частичная их гибель, увеличение числа резервных синусоидных капилляров, выраженное повышение секреторной активности эндотелиоцитов и поступление белка vWF в кровь. В полости подаортального конуса и створках клапанов животных в процессе старения накапливается пигментные палочковидные и зернистые структуры, микротромбы и макрофаги.

PATHOLOGICAL CHANGES IN THE RAT HEART TISSUES DURING AGING (ACCORDING TO IMMUNO-

HISTOCHEMICAL STUDIES). E. Chumasov, E. Petrova

ABSTRACT

The aim of the work is to study age-related and pathological changes in the tissues of different parts of the heart of rats aged 18-23 months. Neuroimmunohistochemical reactions for PGP 9.5 protein, tyrosine hydroxylase, synaptophysin, von Willebrand factor and staining with toluidine blue for mast cells were used. A correlation was found between the level of decrease in the intensity of the innervation of the heart and pathological changes in the tissues of the heart. Destructive changes in the nervous apparatus, the presence of lymphomononuclear infiltrates and mast cells were revealed in the aortic-pulmonary region, atria and ventricles. Along with the degeneration of the nervous apparatus, reactive and destructive changes in arteriole and capillary endothelial cells, as well as their death, an increase in the number of reserve sinusoidal capillaries, an increase in the secretory activity of endotheliocytes, and pigment accumulation in the cavity of the subaortic cone were revealed.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Коржевский Д.Э. Фактор Виллебранда эндотелиоцитов кровеносных сосудов и его использование в иммуноморфологических исследованиях / Д.Э. Коржевский, О.В. Кирик, Е.Г. Сухорукова // Мед. академ. журн. – 2017. – Т. 17. - №1. – С. 34-40.
2. Коржевский Д.Э. Преимущества и недостатки цинк-этанол-формальдегида как фиксатора для иммуноцитохимических исследований и конфокальной лазерной микроскопии / Д.Э. Коржевский, Е.Г. Сухорукова, Е.Г. Гилерович, Е.С. Петрова, О.В. Кирик, И.П. Григорьев // Морфология. - 2013. - Т. 143. - № 2. - С. 81-85.
3. Куприянов В. В. Нервный аппарат сосудов малого круга кровообращения / В.В. Куприянов // Л.: Медгиз, 1959. - 191с.
4. Ноздрачев А.Д. Периферическая нервная система / А.Д. Ноздрачев, Е.И. Чумасов. СПб. : Наука. – 1999. – 280с.
5. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции / Н.Н. Петрищев -

2007. – СПб.: ИИЦ ВМА. - 269с.
6. Хавинсон В.Х. Эпигенетические аспекты пептидной регуляции пролиферации эндотелия сосудов при его старении / В.Х. Хавинсон, С.И. Тарновская, Н.С. Линькова, Е.О. Гутоп, Е.В. Елашкина // Успехи геронтологии. - 2014. - Т. 27. - № 1. - С. 108-114.
7. Чумасов Е.И. Иммуногистохимия периферической нервной системы / Е.И. Чумасов, Е.А. Колос, Е.С. Петрова, Д.Э. Коржевский. СПб.: СпецЛит. - 2020.
8. Шабров А.В. Роль и методы оценки эндотелиальной дисфункции в практической медицине / А.В. Шабров, А.Г. Апресян, А.Л. Добкес, С.Ю. Ермолов, Т.В. Ермолова, С.Г. Манасян, С.В. Сердюков // Мед. академ. журн. - 2017. - Т. 17. - № 1. - С. 7-23.
9. Швалев В.Н. Морфологические основы иннервации сердца / В.Н. Швалев, А.А. Сосунов, Г. Гуски Г. М.: Наука. - 1992. – 368 с.
10. Chumasov E.I. Investigation of nerve apparatus and mast cells in the heart of old rats / E.I. Chumasov, E.S. Petrova, E.A. Kolos, D.E. Korzhevskii // Adv. Geront. - 2021. - Vol. 11. - № 1. - P. 29–36. doi: 10.1134/S2079057021010355
11. Levick S.P. Sympathetic nervous system modulation of inflammation and remodeling in the hypertensive heart / S.P. Levick, D.B. Murray, J.S. Janicki, G.L. Brower // Hypertension. - 2010. - Vol. 55. - №2. - P. 270-276. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.142042.
12. Mjaatvedt C.H. Normal distribution of melanocytes in the mouse heart / C.H. Mjaatvedt, C.B. Kern, R.A. Norris, S. Fairey, C.L. Cave // Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol. - 2005. - Vol. 285. - №2. - P. 748-757. doi: 10.1002/ar.a.20210.
13. Valentijn K.M. Multigranular exocytosis of Weibel-Palade bodies in vascular endothelial cells / K.M. Valentijn, L.F. Van Driel, M.J. Mourik // Blood. - 2010. - Vol. 116. - № 10. - P. 1807–1816. doi: 10.1182/blood-2010-03-274209
14. Valentijn K.M. Functional architecture of Weibel-Palade bodies / K.M. Valentijn, J.E. Sadler, J.A. Valentijn, J. Voorberg, J. Eikenboom // Blood. - 2011. - Vol. 117. - № 19. - P. 5033–5043. doi: 10.1182/blood-2010-09-267492

УДК 636.2:591.11.001.8

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.128

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА КОРОВ В РАЗНЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСТЕНСИВНОГО И ИНТЕНСИВНОГО ВЕДЕНИЯ ЖИВОТНОВОДСТВА

Гнездилова Л. А. - д. вет.н., проф. каф. диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Круглова Ю.С.-к.вет. н., доц. каф. диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина

Ключевые слова: коагуляционный гемостаз, крупный рогатый скот, активированное частичное тромбопластиновое время, фибриноген, протромбиновое время, тромбопластиновое время, интенсивное ведение производства. **Keywords:** coagulation hemostasis, cattle, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, prothrombin time, thromboplastin time, intensive production.



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследования коагуляционного гемостаза у коров в условиях интенсивного и экстенсивного производства в разные физиологические периоды (сухостойный, новотельный и на пике лактации). Выявлены нарушения коагуляционного гемостаза у продуктивных животных в разные физиологические периоды, как при интенсивном, так и при экстенсивном ведении хозяйства и установлена связь этих изменений с кормлением, содержанием и эксплуатацией коров.

Установлено, что показатель активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) достоверно выше у сухостойных коров при обеих системах содержания. Отмечено удлинение протромбинового и тромбинового времени и снижение количества фибриногена, что свидетельствует о дефиците факторов свертывания и указывает на гипо- или дисфибриногемиию. Впервые сделано заключение о возможности использования показателей коагуляционного гемостаза в качестве объективной оценки влияния технологических факторов в условиях интенсификации производства.

ВВЕДЕНИЕ

Коагуляционный гемостаз обеспечивается огромным количеством составляющих. Это и сами сосуды, и форменные элементы крови, плазменные белковые факторы, антикоагулянты, ингибиторы и активаторы фибринолиза и т.д. В поддержании коагуляционного гемостаза участвуют также печень, селезенка и костный мозг, а синтез ряда элементов, обеспечивающих гемостаз невозможен без достаточного количества витамина К, С, витаминов группы В, белка и т.д. В свою очередь, установлено, что нарушения коагу-

ляционного гемостаза снижают гемоциркуляцию в тканях и органах и, тем самым, ухудшают общее состояние организма. Таким, образом, несбалансированность рационов кормления может приводить к серьезным нарушениям метаболизма организма высокопродуктивного молочного скота (Георгиевский В.И., Анненков Б.Н., Самохин В.Т., 1979).

До настоящего времени в полной мере не выяснены многие вопросы, связанные с различными компонентами гемостатического процесса у крупного рогатого скота. Остается не определенной выра-

женность возрастных физиологических изменений гемостаза у продуктивного крупного рогатого скота (Завалишина С.Ю., 2011). Окончательно не выяснены функциональные особенности отдельных параметров гемостаза у крупного рогатого скота в течение стельности и лактации (Завалишина С.Ю., 2015, 2017; Ощуркова Ю.Л., Медведев И.Н., 2017). Доступные в настоящее время сведения по гемостазу крупного рогатого скота носят крайне отрывочный характер и посвящены лишь отдельным его фрагментам (Фомина Л.Л., 2009; Белова Т.А., 2011; Соболева Е.Н. и др., 2012; Глаголева Т.И., 2012).

В связи с этим нами была изучена физиологическая динамика основных элементов гемостаза у крупного рогатого скота. Были установлены особенности изменения показателей длительности активированного парциального тромбoplastинового (АЧТВ), протромбинового (ПВ), тромбинового (ТВ) времени и активности I фактора свертывания (фибриногена).

Цель исследования – выявить влияние технологических факторов на показатели коагуляционного гемостаза коров в условиях интенсивного производства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-исследовательская работа выполнялась в экспериментальном племенном хозяйстве АО «Леднево» Юрьев-Польский района Владимирской области в период с октября по декабрь 2021 года.

Объектом исследований были черно-пестрые голштинизированные коровы, которые содержались на двух молочных комплексах:

- 1 комплекс с экстенсивным ведением животноводства. Доеие двукратное, в молокопровод с помощью трехтактного аппарата ДА-3М Волга. Содержание коров привязное. В летний период коровы находятся на выпасе; в зимний период кормление осуществляется кормосмесями из мобильного кормораздатчика на кормовой стол.

Объектом для выполнения наших исследований служили коровы в возрасте 3-5-х лет, средней упитанности, с живой

массой 500-550 кг, продуктивностью 7000-7500 кг.;

- 2 комплекс - с интенсивным ведением животноводства. Современный молочный комплекс с беспривязным содержанием коров. Светлые помещения с площадками для механической очистки коров. Современная доильная система траншейного типа с аппаратами мягкого доения (Делаваль). Продуктивность коров на комплексе составила 9500 кг за лактацию.

На каждом комплексе исследования проводили на 3-х группах коров: новотельных (послеродовый), на пике лактации, сухостойных при каждом типе содержания.

Лабораторные исследования проводились на базе кафедры диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных и ИВЦ ФГБОУ ВО МГАВМиБ -МВА имени К.И. Скрябина, а также в условиях независимой ветеринарной лаборатории «Шанс-био».

Проведение исследования системы гемостаза (коагуляционный гемостаз). Система гемостаза – сложная биологическая система, основными функциями которой являются: А. Остановка кровотечений путём поддержания структурной целостности стенок кровеносных сосудов и достаточно быстрого их тромбирования при повреждениях; В. Сохранение жидкого состояния крови (Баркаган З.С., 1988).

Для проведения исследований использовали материал: венозная кровь с антикоагулянтом - цитратом натрия 3,8% в соотношении 1/9.

Кровь брали с помощью иглы с широким просветом, без шприца. Первые порции крови сливали, чтобы в пробе отсутствовал тканевой тромбопластин. Кровь у коров получали самотеком, медленно перемешивая в пробирке.

Затем пробы центрифугировали 15 минут при 3000 оборотов в минуту. Отделенную плазму замораживали.

Обработка экспериментальных данных выполнена с использованием методов биометрии (Лакин Г.Ф., 1990; Мака-

Таблица 1

Гемостаз у стельных, отелившихся и лактирующих коров.
Активированное частичное тромбопластиновое время (сек) (АЧТВ)

Сухостойные коровы		Новотельные коровы		Коровы на пике лактации	
Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5
35,4	39,4	31,9	34,2	37,3	35,1
40,8	38,7	31,1	37,9	35,8	33,2
37,3	40,2	37,4	38,2	33,5	37,4
40,8	45,5	35,3	35,6	32,1	38,4
38,1	35,8	43,4	34,8	30,1	32,5
38,48±2,334	39,92±3,534	35,82±4,964	36,14±1,816	33,76±2,868*	35,32±2,565**

Примечание: ** - различия достоверны при $p \leq 0,01$

Таблица 2

Гемостаз у стельных, отелившихся и лактирующих коров.
Тромбопластиновое время (сек) (ТВ)

Сухостойные коровы		Новотельные коровы		Коровы на пике лактации	
Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5
20,4	29,0	27,2	25,9	29,1	28,0
23,5	22,3	27,1	24,5	25,0	33,2
30,1	30,2	19,5	27,3	24,3	27,2
34,0	33,5	23,5	24,1	31,1	26,2
21,6	19,9	34,4	22,1	29,7	20,5
25,92±5,868	26,98±5,679	26,34±5,503	24,78±1,958	27,84±3,011	27,02±4,538

Таблица 3

Гемостаз у стельных, отелившихся и лактирующих коров.
Протромбиновое время (сек) (ПВ)

Сухостойные коровы		Новотельные коровы		Коровы на пике лактации	
Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5
20,6	17,0	19,1	16,5	18,7	18,5
19,9	17,2	19,0	16,1	19,9	18,2
20,9	18,7	17,6	20,1	19,5	19,3
18,7	20,2	19,9	17,2	18,8	19,7
20,1	20,4	20,5	16,4	18,1	18,8
20,04±0,847	18,7±1,603	19,22±1,094	17,26±1,638	19,0±0,707	18,9±0,604

Таблица 4

Гемостаз у стельных, отелившихся и лактирующих коров.
Фибриноген (г/л)

Сухостойные коровы		Новотельные коровы		Коровы на пике лактации	
Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5
1,4	2,1	1,8	2,1	2,5	1,6
2,2	2,2	1,8	1,7	1,8	2,6
1,0	2,4	1,4	0,9	2,8	2,5
2,5	0,6	2,6	2,7	1,4	2,6
2,4	2,3	1,1	2,3	1,2	1,3
1,9±0,663	1,92±0,746	1,74±0,564	1,94±0,684	1,94±0,691	2,12±0,622

Таблица 5

Сравнительная оценка показателей АЧТВ, ТВ, ПВ у стельных, отелившихся и лактирующих коров.

Показатели	Норма (данные Завалишиной С.Ю.)	Сухостойные коровы		Норма (данные Завалишиной С.Ю.)	Новотельные коровы		Норма (данные Завалишиной С.Ю.)	Коровы на пике лактации	
		Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5		Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5		Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5
АЧТВ, сек	38,2±0,14	38,48±2,334	39,92±3,534	36,9±0,13	35,82±4,946	36,14±1,816	33,0±0,09	33,76±2,86	35,32±2,565
Тромбиновое время, сек	15,1±0,12	25,92±5,868	26,98±5,679	14,1±0,11	26,34±5,503	24,78±1,958	11,6±0,07	27,84±3,01	27,02±4,538
Протромбиновое время, сек	16,1±0,24	20,04±0,847	18,7±1,603	14,7±0,09	19,22±1,094	17,26±1,638	12,6±0,08	19±0,707	18,9±0,60

рова Н.В., Трофимец В.Я., 2002) и компьютерной программы Microsoft Office Excel пакета «Анализ данных».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение показателей активированного парциального тромбопластинового (АЧТВ), протромбинового (ПВ), тромбинового (ТВ) времени и активность I фактора свертывания (фибриноген) проводили в хозяйствах с экстенсивным и интенсивным производством у коров в разные физиологические периоды (сухостойные коровы, новотельные и ко-

ровы на пике лактации). Результаты исследований представлены в таблице 1.

Оценка коагуляционных тестов у коров выявила их изменчивость. Показатель активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) крови достоверно выше у сухостойных коров, как с интенсивным, так и с экстенсивным ведением хозяйства (38,48±2,34 и 39,92±3,53). По сравнению с коровами на пике лактации разница показателей составила 13,9 (p≤0,01) и 13,1 % (p≤0,01) соответственно. Повышение значений (удлинение)

Таблица 6

Сравнительная оценка показателя фибриногена (г/л) у стельных, отелившихся и лактирующих коров.

Показатель	Норма (Ошуркова Ю.Л., Медведев И.Н.)	Сухостойные коровы		Новотельные коровы		Коровы на пике лактации	
		Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5	Экстенсивное производство n=5	Интенсивное производство n=5
Фибриноген	2,75-3,65	1,91±0,663	1,92±0,746	1,74±0,564	1,94±0,684	1,94±0,691	2,12±0,622

АЧТВ свидетельствует о гипокоагуляции. У отелившихся коров в течение первых 60 суток лактации по сравнению с сухостойными коровами также отмечена тенденция к ускорению показателя АЧТВ на 7 и 9 % при интенсивном и экстенсивном ведении хозяйства соответственно.

При изучении результатов, полученных при определении тромбинового, протромбинового времени и содержания фибриногена сухостойных, новотельных и коров на пике лактации, каких-либо существенных различий между физиологическими группами как при интенсивном, так и при экстенсивном производстве отмечено не было.

Ввиду отсутствия официальных референсных значений исследуемых показателей для крупного рогатого скота в качестве нормы для оценки полученных данных мы использовали результаты исследований Завалишиной С.Ю. с соавт. (2017) и Ошуркова Ю.Л. с соавт. (2017).

При анализе данных таблицы 5 было установлено, что результаты, полученные при определении активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) коррелируют с референсными показателями. При анализе данных, полученных при определении тромбинового и протромбинового времени было отмечено, что они значительно превышают результаты, полученные Завалишиной С.Ю. (2017) во всех трех физиологических группах, как при интенсивном, так и при экстенсивном ведении хозяйства. При анализе данных таблицы 6 необходимо

отметить, что во всех опытных группах в крови коров имеет место снижение содержания фибриногена.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований было установлено, что в группах животных с интенсивным и с экстенсивным ведением производства имело место удлинение протромбинового и тромбинового времени и снижение количества фибриногена во всех трех физиологических периодах (сухостойные коровы, новотельные и коровы на пике лактации).

Удлинение протромбинового времени возможно при дефиците факторов свертывания, которые, в свою очередь возникают вследствие патологии печени у животных, а также дефиците витамина К в кормах (II, VII, X факторы образуются в гепатоцитах только в присутствии витамина К).

Удлинение тромбинового времени свидетельствует о гипербилирубинемии (патология печени), гипо- или дисфибриногенемии (подтверждено собственными результатами исследований).

Снижение количества фибриногена также может быть связано с тяжелыми патологиями печени.

На основании полученных результатов можно предположить, что интенсивное использование культурных пастбищ, применение малокомпонентных рационов с низким качеством кормов и узким видовым составом растений приводит к недостатку минералов и витаминов, негативно сказывается на состоянии печени, приво-

дит к дистрофическим изменениям органа. В свою очередь это оказывает влияние на систему коагуляционного гемостаза. Поскольку ряд факторов свертывания системы крови синтезируются в печени и часто зависят от наличия витамина К (протромбин, проакцелерин, проконвертин, фактор Кристмаса, фактор Стюарта-Прауэра, фибринстабилизирующий фактор и др.) нарушение технологии кормления и эксплуатации животных может приводить к нарушению коагуляционного гемостаза. Кроме того, использование кормов, несбалансированных по кальций-фосфорному соотношению могут привести к недостатку IV фактора свертывания – ионизированному кальцию, который поступает с кормом и участвует в переходе фибриногена в фибрин, агрегации тромбоцитов, ретракции тромба, связывает гепарин. В организме животного он не синтезируется.

Что касается физиологической динамики изученных показателей гемостаза, то у сухостойных коров показатель АЧТВ достоверно больше ($p \leq 0,01$) такового у коров на пике лактации. Полученные результаты коррелируют с данными Завалишиной С.Ю. с соавт. (2017).

DYNAMICS OF INDICATORS OF COAGULATION HEMOSTASIS OF COWS DURING DIFFERENT PHYSIOLOGICAL PERIODS UNDER THE CONDITIONS OF EXTENSIVE AND INTENSIVE LIVESTOCK MANAGEMENT.
Gnezdilova L. A.-Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Diagnosis of Diseases, Therapy, Obstetrics and Animal Reproduction of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education MGAVMiB - MVA named after K.I. Scriabin, Kruglova Y.S.-Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Diagnosis of Diseases, Therapy, Obstetrics and Animal Reproduction of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education MGAVMiB - MVA named after K.I. Scriabin.

ABSTRACT

The article presents the results of a study of coagulation hemostasis in cows under

conditions of intensive and extensive production in different physiological periods (dry, fresh and at the peak of lactation). Disorders of coagulation hemostasis have been revealed in productive animals in different physiological periods under both intensive and extensive housekeeping, and a relationship has been established with feeding, keeping and exploitation.

It has been established that the index of activated partial thromboplastin time (APTT) is significantly higher in dry cows with both intensive and extensive management. Prolongation of prothrombin and thrombin time and a decrease in the amount of fibrinogen were noted, which indicates a deficiency of coagulation factors and indicates hypo- or dysfibrinogenemia. For the first time, a conclusion was made about the possibility of using indicators of coagulation hemostasis as an objective assessment of the influence of technological factors in conditions of intensification of production.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. Издание 3-е. М.: Ньюдиамед.- 2008.- 292с.
2. Белова Т.А., Завалишина С.Ю. Агрегация тромбоцитов и эритроцитов у телят в раннем онтогенезе. -Монография. – М.: Издательство МГОУ.- 2011. – 106 с.
3. Глаголева Т.И. Онтогенетическая динамика основных гематологических показателей у крупного рогатого скота. Ветеринария, зоотехния и биотехнология.- 2016.- № 5.-с. 66-69.
4. Георгиевский, В.И. Анненков Б.Н., Самохин В.Т. Минеральное питание животных. – М.: Колос.- 1979. – 471 с.
5. Завалишина С.Ю. Коагуляционная активность плазмы крови у телят при растительном кормлении. Ветеринария.- 2011.- № 4.-с. 48-49.
6. Завалишина С.Ю., Белова Т.А., Медведев И.Н., Кутафина Н.В. Физиология крови и кровообращения. Санкт-Петербург:«Лань».- 2015.- 176с.
7. Завалишина, С.Ю. Сосудисто-тромбоцитарные взаимодействия у стельных коров. Фундаментальные исследования

ния. 2015.-с. 2(часть 2).-с. 267-271.
8.Завалишина С.Ю. Активность компонентов системы гемостаза у крупного рогатого скота. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. Дубровицы.-2017.-54с.

9.Ошуркова Ю.Л., Медведев И.Н. Физиологические особенности тромбоцитарно-коагуляционного гемостаза у сухостойных коров айширской породы /научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке»,-2017.-т. 19,с.20-23

УДК 636.082.2:636.034

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.134

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АРАФ1 У ГОЛШТИНСКОГО СКОТА

Сафина Н.Ю. – к.б.н., с.н.с., Фаттахова З.Ф. – к.б.н., с.н.с., Гайнутдинова Э.Р. – н.с., Ш.К. Шакиров – д.с.-х.н., проф., г.н.с.; Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФИЦ КазНЦ РАН

Ключевые слова: ген, полиморфизм, ПЦР-ПДРФ, АРАФ1, НН1, Фактор 1, активирующий апоптические протеазы, гаплотип фертильности, эмбриональная смерть, крупный рогатый скот **Keywords:** gene, polymorphism, PCR-RLFP, АРАФ1, НН1, apoptosis peptide activating factor 1, reproduction function, embryonic death, cattle



РЕФЕРАТ

В статье представлены данные ДНК-тестирования крупного рогатого скота голштинской породы по гену АРАФ1. Изучена структура татарстанской популяции в сравнении с мировым опытом. Цель исследования – изучить аллельный полиморфизм гена фактора 1, активирующего апоптические протеазы (АРАФ1; g.C6315040T; p.Gln579Q→X), – причины гаплотипа фертильности (НН1), в отечественной популяции голштинского скота Республики Татарстан. Методы. Генетическое типирование проводилось методом ПЦР-ПДРФ с последующим электрофоретическим разделением в агарозном геле в присутствии бромида этидия. Впервые в Республике Татарстан в условиях СХПК «ПЗ им. Ленина» проведена идентификация крупного рогатого скота по локусу гена АРАФ1 - BstC8 I, оценено генетическое равновесие и структура популяции. В результате генодиагностики были идентифицированы два аллеля и три генотипа. Частота встречаемости аллелей Q и X составила 0,988 и 0,012; генотипов QQ и QX – 97,5 и 2,5 % соответственно. Поскольку гомозиготные ХХ-эмбрионы не выживают, они никогда не встречаются среди рожденных животных. Тестированием методом хи-квadrat показало, что исследуемая популяция находится в генетическом равновесии согласно закону Харди-Вайнберга. Наши исследования подтверждают незначительную долю присутствия животных-носителей летального аллеля в популяции голштинского скота отечественной селекции Республики Татарстан. Для сдерживания распространения мутантного аллеля Х гена фактора 1 активирующего апоптические протеазы, при отборе и подборе пар для селекционно-племенной работы, рекомендуется проводить ДНК-тестирование полиморфизма гена АРАФ1.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы существует мировая тенденция к увеличению генетических мутаций, приводящих к образованию летальных и полuletальных аллелей у голштинской крупного рогатого скота. Острыми патологиями для животных являются такие аномалии, как потеря эмбрионов или гибель плода, мертворождение, уродство или иммуносупрессия телят, дефицит адгезии лейкоцитов и дефицит уридинмонофосфатсинтазы, цитруллинемия, брахиспина, сложные пороки развития позвоночника, гаплотип дефицита холестерина, и несколько гаплотипов голштинской породы. Все эти мутации являются рецессивными и проявляются как нарушения фенотипа только в том случае, если присутствуют оба аллеля, поэтому проблема распознается только тогда, когда частота гена высока, а аллель уже зафиксирована в популяции [6].

Летальные мутации являются наиболее вредными с экономической точки зрения, потому что ни одно потомство, несущее такие мутации, не выживет и не сможет размножиться. Летальные генетические мутации – гаплотипы голштинской породы (НН) ответственны за эмбриональную и внутриутробную смертность, а так же снижение репродуктивных качеств голштинского скота в целом [1, 12]. Было установлено, что причиной НН1 является нонсенс-мутация, при которой белковый продукт экспрессии мутантного гена приобретает новые и патологические функции (g.C6315040T; p.Gln579Q→X), в гене фактора 1, активирующего апоптотические протеазы (АРАF1) ВТА5, имеющего решающее значение для эмбрионального развития [4].

АРАF1 представляет собой многодоменный белок, состоящий из домена рекрутирования каспазы (CARD), домена связывания и олигомеризации нуклеотидов (NOD) и области повторов WD40 [18]. В структурные изменения белка вовлечены сложные физиологические и биохимические процессы. Активированная форма каспазы-9 инициирует каспаз-

ный каскад, который в конечном итоге приводит к апоптотической гибели клеток [4, 17] АРАF1 образует олигомер, который при контакте с цитохромом-с и dATP образует цитоплазматическую структуру апоптосомы, которая связывает препротеин каспазы-9 и расщепляет его до зрелой активной формы. Эти трансформации оказывают влияние на этиологию рака, нарушения развития и нейродегенеративные заболевания [13, 15].

Обширные исследования в области происхождения, распространения и наследования в России и за рубежом 10-ти гаплотипов фертильности голштинского крупного рогатого скота (HCD, НН0, НН1, НН2, НН3, НН4, НН5,

ННВ, ННС, ННD) проведены командой российских ученых [1, 3]. А.Н. Зиновьевой и др. разработан и запатентован «Способ определения полиморфизма АРАF1, ассоциированного с гаплотипом фертильности голштинского скота НН1», который применяется на практике [3].

Анализы на основе ПЦР, которые являются наиболее простыми, экономичными и точными, могут эффективно использоваться для скрининга летальных генов и генетических мутаций у ремонтных телок, маточного поголовья и быков-производителей [14, 19], своевременно идентифицируя животных-носителей летального аллеля. Поскольку гомозиготные эмбрионы не выживают, они никогда не встречаются в гомозиготном состоянии среди рожденных животных.

Цель данного исследования – изучение аллельного полиморфизма гена фактора 1, активирующего апоптотические протеазы (АРАF1; g.C6315040T; p.Gln579Q→X), – причины гаплотипа фертильности (НН1), в отечественной популяции голштинского скота Республики Татарстан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные данные были получены при проведении опыта в 2021 г. в условиях СХПК «Племенной завод им. Ленина», расположенного в Атнинском районе Республики Татарстан. Животные (80 гол.), от которых получен биоматериал, являются полновозрастными корова-

Таблица 1.

Частота встречаемости аллелей и генотипов гена ARAF1

Распределение	Генотипы						Аллели		χ^2
	QQ		QX		XX		Q	X	
	n	%	n	%	n	%			
Наблюдаемое	78	97,5	2	2,5	0	0,0	0,988	0,012	0,013

ми голштинской породы отечественной селекции старше 3-й лактации.

Лабораторные молекулярно-генетические тесты проб крови проводились в отделе агробиологических исследований ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН. Экстрагирование и очистку ДНК из цельной крови выполняли при помощи готового набора «АмплиПрайм» (Некст Био, Россия). Генотипирование животных по гену ARAF1 (Gln579Q→X) осуществляли методом ПЦР, с последующей рестрикцией эндонуклеазой BstC8 I (*Bacillus stearothermophilus* C8), по ранее разработанному и апробированному протоколу [3]. Разделение продуктов ПДРФ-анализа протекало в камере горизонтального фореа в агарозном 2,6% геле. Данные, полученные при идентификация и визуализация SNP обрабатывались и документировались в программе Gel&Doc (Bio-Rad, США).

Для локуса гена ARAF1 - BstC8 I были рассчитаны аллельные и генотипические частоты, наблюдаемая и наблюдаемая гетерозиготность, равновесие Харди-Вайнберга.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе генетического типирования были идентифицированы два аллеля: Q и X, и два генотипа: QQ и QX (Таблица 1).

Частота встречаемости аллеля Q составила 0,988, а аллеля X – 0,012. Генотипы гена ARAF1 имели следующее соотношение: QQ – 97,5% (78 гол.) и QX – 2,5% (2 гол.). Ожидаемая гетерозиготность была аналогична наблюдаемой, без признаков смещения в сторону нарастания или понижения. Вариабельность между теоретическими и экспериментальными данными распределения генотипов, оцененная методом хи-квадрат Пирсона, составила

0,013, что ниже критического значения χ^2 (5,99). По результатам теста Харди-Вайнберга, аллели находились в равновесии ($p > 0,05$). Хотя общее количество проанализированных животных слишком мало, чтобы предположить, что эти аллели равномерно распределены в исследуемой популяции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследователи гаплотипа фертильности NN1, вызываемого мутацией геном Фактора 1, активирующего апоптотические протеазы, в своих обзорах представили неоднозначные результаты ДНК-тестирования крупного рогатого скота по гену ARAF1. Данные по частоте встречаемости генотипов среди разных популяций голштинского скота наглядно демонстрирует гистограмма на рисунке 1.

Максимальный уровень животных с гетерозиготным генотипом QX – 47,75% от общего числа идентифицированного поголовья зафиксирован в Польше [11]. Доля таких особей в популяциях, оцененных российскими учеными, составила 17,50 и 1,49 % [1, 2].

Установлено, что численность уругвайских голштинских коров, несущих в локусе гена ARAF1 (g.C6315040T; p.Gln579Q→X) летальный аллель X, имеет значение 4,44% [6]. Поголовье животных, имеющих генотип QX в Японии и США, насчитывало 2,15 и 2,90 % соответственно [4, 10]. Незначительное количество – 0,88 и 0,24 % QX-типированных особей наблюдалось в популяциях колумбийского и индийского скота голштинской породы [7, 13].

В 3-х изученных стадах голштинского скота Бразилии [5], Франции [8] и Казахстана [16], судя по представленным в открытом доступе исследованиям, все жи-

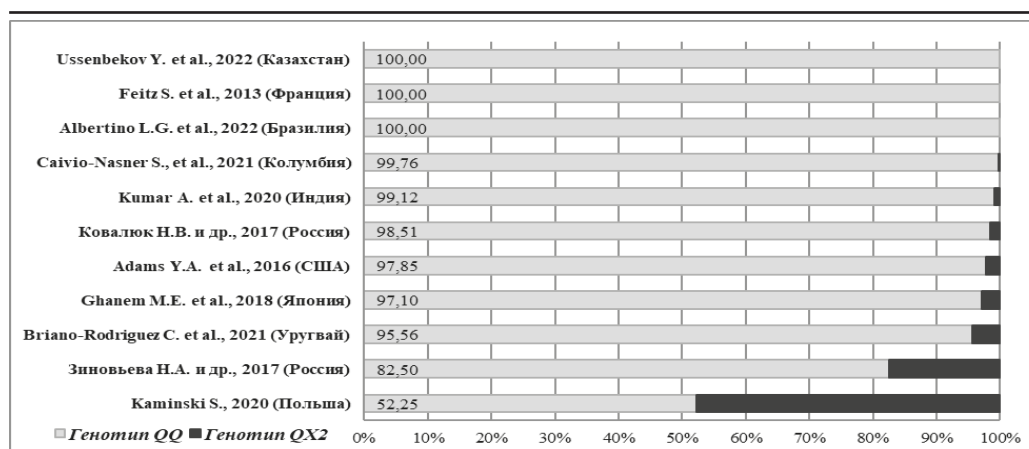


Рисунок 1. Частота встречаемости генотипов гена APAF1 в мировых популяциях голштинского скота, %

вотные, прошедшие ДНК-тестирование полиморфизма гена APAF1, являлись гомозиготными QQ.

ВЫВОДЫ

Из полученных нами результатов идентификации полиморфизма гена фактора 1, активирующего апоптотические протеазы (APAF1; g.C6315040T; p.Gln579Q→X), – причины гаплотипа фертильности (HH1), в отечественной популяции голштинского скота Республики Татарстан следует, что животные-носители летального аллеля X занимают малую часть от общего поголовья – 2,5%, что, в большинстве случаев, согласуется с большей частью исследований различных авторов, изложенных выше. Скорее всего, описанное распределение аллелей связано с использованием спермопродукции быка, гетерозиготного по гену APAF1 в селекционных мероприятиях.

Для сдерживания распространения мутантного аллеля X гена фактора 1 активирующего апоптотические протеазы, при отборе и подборе пар для племенной работы, рекомендуется проводить ДНК-тестирование полиморфизма гена APAF1.

**Статья подготовлена в рамках государственного задания: Эколого-генетические подходы к созданию и сохранению ресурсов растений и животных, расширению их адаптивного потенциала и биоразнообразия, разработка*

сберегающих агротехнологий с целью повышения устойчивости производства высококачественной продукции, достижения безопасности для здоровья человека и окружающей среды. Номер регистрации: 122011800138-7.

IDENTIFICATION OF POLYMORPHISM IN APAF1 GENE IN HOLSTEIN CATTLE

Natalia Yu Safina – candidate of biological sciences, senior researcher, Ziliya F Fattakhova – candidate of biological sciences, senior researcher, Elza R Gaynutdinova – researcher, Shamil K Shakrov – doctor of agricultural sciences, professor, chief researcher; Tatar Scientific Research Institute of Agriculture “Kazan Scientific Center of Russia Academy of Sciences”, Kazan, Russian Federation

ABSTRACT

The article presents the data of DNA testing of Holstein cattle by the APAF1 gene. The structure of the Tatarstan population was studied in comparison with world experience. The aim of the study was to study the allelic polymorphism of the apoptosis peptide activating factor 1 gene (APAF1; g.C6315040T; p.Gln579Q→X), the cause of the fertility haplotype (HH1), in the domestic population of Holstein cattle of the Republic of Tatarstan. Genotyping was carried out by PCR-RFLP followed by elec-

trophoretic separation in agarose gel in the presence of ethidium bromide. For the first time in the Republic of Tatarstan in the conditions of the Dairy farm "named Lenin" carried out the identification of cattle by the locus of APAF1 - BstC8 I, assessed the genetic equilibrium and structure of the population. As a result of gene diagnostics, two alleles and three genotypes were identified. The frequency of occurrence of alleles Q and X was 0.988 and 0.012; genotypes QQ and QX – 97.5 and 2.5%, respectively. Since homozygous XX embryos do not survive, they are never found among born animals. Chi-quad testing showed that the studied population is in genetic equilibrium according to the Hardy-Weinberg law. Our studies confirm an insignificant share of the presence of animals-carriers of the lethal allele in the population of Holstein cattle of domestic selection of the Republic of Tatarstan. In order to contain the spread of the mutant allele X of the apoptosis peptide activating factor 1 gene, it is recommended to conduct DNA testing of polymorphism of the APAF1 gene during the selection of pairs for breeding.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Зиновьева, Н.А. Гаплотипы фертильности голштинского скота / Н.А. Зиновьева // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т 51, № 4. С. 423-435.
2. Ковалюк, Н.В. А.А. Новая тест-система для выявления НН1 – гаплотипа фертильности крупного рогатого скота голштинской породы / Н.В. Ковалюк, Е.В. Мачульская., Ю.Ю. Шахназарова и др. // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. 2018. Т 7(2). С. 8-13.
3. Патент на изобретение RU 2614117 С1 Опубликовано 22.03.2017 Бюл. № 9. Заявка № 2016108132, от 09.03.2016 «Способ определения полиморфизма APAF1, ассоциированного с гаплотипом фертильности голштинского скота НН1» / Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Костюнина О.В. Романенкова О.С.
4. Adams, H.A. Identification of a nonsense mutation in APAF1 that is likely causal for a decrease in reproductive efficiency in Hol-

stein dairy cattle / H.A. Adams, T.S. Sonstegard, P.M. VanRaden et al. // Journal of Dairy Science. 2016. vol. 99. P 6693–6701.
5. Albertino, L.G. Allele Frequency of APAF1 Mutation in Holstein Cattle in Brazil / L.G. Albertino, A.L.H. Albuquerque, J.F. Ferreira et al. // Frontiers in Veterinary Science. 2022. vol. 9. Art. 822224. DOI: 10.3389/fvets.2022.822224
6. Briano-Rodriguez, C. Lethal and semi-lethal mutations in Holstein calves in Uruguay / C. Briano-Rodriguez, A. Romero, S. Llambí et al. // Ciência Rural, Santa Maria. 2021. v. 51:7. e20200734. <http://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200734>
7. Caivio-Nasner, S. Frequency of genotypic markers for genetic disorders, colour, polledness, and major genes in Blanco Orejinegro cattle / S. Caivio-Nasner, A. López-Herrera, L.G. González-Herrera et al. // Tropical Animal Health and Production. 2021. vol. 53: 546. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02990-y>
8. Fritz, S. Detection of Haplotypes Associated with Prenatal Death in Dairy Cattle and Identification of Deleterious Mutations in GART, SHBG and SLC37A2 / S. Fritz, A. Capitan, A. Djari et al. // PLoS ONE. 2013. vol. 8(6): e65550. DOI:10.1371/journal.pone.0065550
9. Ghanem, M.E. Detection of APAF1 mutation in Holstein cows and mummified foetuses in Japanese dairy herds / M.E. Ghanem, M. Nishibori, N. Isobe et al. // Reproduction in Domestic Animals. 2018. vol. 53. P. 137–142.
10. Ghanem, M.E. Haplotypes associated with fetal death and abortion in Holstein cows with special reference to the situation in Japan / M.E. Ghanem, M. Nishibori // The Journal of Animal Genetics. 2018. vol. 46. P. 25–30.
11. Kamiński, S. Novel method for identification of the lethal mutation in bovine APAF1 gene and its preliminary prevalence in Polish Holstein-Friesian bulls / S. Kamiński // Polish Journal of Veterinary Sciences. 2020. vol. 23, No. 1. P. 157–160.
12. Kumar, A. Development of PCR based assays for detection of lethal Holstein haplotype 1, 3 and 4 in Holstein Friesian cattle /

- A. Kumar, I.D. Gupta, G. Mohan et al. // *Molecular and Cellular Probes*. 2020. 50: 101503. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2019.101503>
- 13.Ma, H. Identification and Functional Analysis of Apoptotic Protease Activating Factor-1 (Apaf-1) from *Spodoptera litura* / Ma H., Yan X., Yan L. // *Insects*. 2021. vol. 12. P. 64. <https://doi.org/10.3390/insects12010064>
- 14.Safina, N.Yu. Dynamics of dairy production of heifers of different genotypes of stearyl coa desaturase (SCD1) / N.Yu. Safina, Sh.K. Shakirov, F.F. Zinnatova et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2018. T. 9. No 6. P. 2028-2031.
- 15.Singh, R. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins / R. Singh, A. Letai, K. Sarosiek // *Molecular Cell Biology*. 2019. vol. 20. P. 175-193.
- 16.Ussenbekov, Y. Identification of monomorphic and polymorphic genes associated with recessive fertility defects in Holstein cows reared in Kazakhstan / Y. Ussenbekov, A. Bagdat, Zh. Bimenova et al. // *Veterinarski Arhiv*. 2022. vol. 92 (1). P. 27-35.
- 17.Wang, X. Bmapaf-1 is Involved in the Response against BmNPV Infection by the Mitochondrial Apoptosis Pathway / X. Wang, X. Ding, Q. Chen et al. // *Insects*. 2020. vol. 11: 647. DOI:10.3390/insects11090647
- 18.Yadav, N. Molecular insights on cytochrome c and nucleotide regulation of apoptosis function and its implication in cancer / N. Yadav, R. Gogada, J. O'Malley et al. // *BBA - Molecular Cell Research*. 2020. vol. 1867 (1). 118573. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2019.118573
- 19.Zinnatov, F.F. Studying the association of polymorphic variants of LEP, TG5, CSN3, LGB genes with signs of dairy productivity of cattle / F.F. Zinnatov, F.F. Zinnatova, A.H. Volkov et al. // *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2020. T. 11. No 2. P. 1428-1432.

УДК 54.062: 615.033

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.140

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ МОДУЛЯТОРОВ ПРОГЕСТЕРОНОВОГО РЕЦЕПТОРА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

Николаев С.В. – к.в.н., научный сотрудник, Институт агrobiотехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра УрО РАН

Ключевые слова: прогестероновый рецептор, прогестерон, 17-гидроксипрогестерона капронат, аглепристон, высокоэффективная жидкостная хроматография масс-спектрометрия. **Keywords:** progesterone receptor, progesterone, 17-hydroxyprogesterone capronate, aglepriston, high-performance liquid chromatography mass-spectrometry.



РЕФЕРАТ

Высокоэффективная жидкостная хроматомасс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС) является комбинированным способом химического анализа и интегрирует независимые друг от друга операции жидкостной хроматографической дифференциации и масс-спектрометрического исследования, что позволяет эффективно определять концентрацию различных веществ в сложных по составу субстанциях. В работе установлены оптимальные параметры определения в плазме крови крупного рогатого скота прогестерона, 17-гидроксипрогестерона капроната (17-ОНРС) и аглепристона данным методом. Количественное определение указанных стероидов, осуществляли с применением внешнего стандарта (абсолютная калибровка). Для этого предварительно строили градуировочные зависимости с использованием эталонных разведений лекарственных веществ. В целях предупреждения воздействия на результат анализа составных компонентов крови практиковали способ матричной градуировки с включением в калибровочные растворы «чистой» плазмы, т.е. не содержащей определяемые соединения. Опытным путем установлено, что время выхода пика прогестерона происходит через 2,72 минуты, а оптимальным ион-прекурсором является $m/z=315,3$. В ходе проведенной работы доказано, что разработанный метод позволяет эффективно определять эндогенный уровень прогестерона в плазме крови у животных, по параметрам, заданным для синтетического аналога. Время выхода пика 17-ОНРС происходило через 4,20 минуты, а оптимальный ион-прекурсор имел массу 429,2 а.е.м. Первый этап по изучению кинетики 17-ОНРС в организме крупного рогатого скота показал, что стероид хорошо визуализируется на хроматограмме даже в невысоких концентрациях. Выход пика аглепристона наблюдался на 2,25 минуте, а оптимальный ион-прекурсор был равен 432,2 а.е.м. Хроматограмма даже при низких концентрациях стероида имела низкий уровень шума, а концентрация стероида в плазме крови через сутки после инъекции 20 мл 3% раствора аглепристона лактирующей корове составила 7,2 нг/мл. Таким образом, подобраны оптимальные параметры для определения концентрации в плазме крови крупного рогатого скота селективных модуляторов прогестеронового рецептора, что позволяет проводить дальнейшую детальную оценку фармакокинетических свойств данных стероидов после их применения.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение концентрации гормонов в крови является важным этапом оценки физиологического статуса и диагностики эндокринных заболеваний у животных. В связи с широким распространением бесплодия у крупного рогатого скота, особый интерес представляет количественное определение половых стероидов, а так же изучения фармакокинетики в организме после применения их синтетических аналогов [7]. Наиболее информативными методами количественного определения стероидных гормонов в биологическом материале принято считать иммуноферментный и радиоиммунологический анализ. Наряду с этим, указанные способы не лишены недостатков: отрицательным моментом использования иммунологических подходов можно считать перекрестную реакцию с близкими по строению веществами [2,4]. Так установлено, что антитела к прегн-4-ене-3,20-диону могут специфически взаимодействовать с такими метаболитами, как 17-гидроксипрогестерон (до 1%) и 11-гидроксипрогестерон (до 25%). Этот факт в свою очередь оказывает существенное влияние на конечный результат и интерпретацию полученных данных [2,3,5].

ВЭЖХ-МС является комбинированным способом и интегрирует независимые друг от друга операции жидкостной хроматографической дифференциации и масс-спектрометрического исследования. На основании полученных при анализе данных отслеживаются взаимосвязь между структурными особенностями ионов, образующихся в результате распада молекул при ионизации, что позволяет высокоточно и эффективно определять наличие и концентрацию различных веществ в сложных по составу субстанциях [6].

Целью исследований явилась разработка и подбор оптимальных параметров для определения селективных модуляторов прогестеронового рецептора в плазме крови методом ВЭЖХ-МС/МС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в лаборатории «Фармацевтическая биотехнология» Вят-

ского ГУ (г. Киров). Для определения стероидов в плазме крови был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС). Работу осуществляли на приборе LCMS-8040 с системой трёх квадруполов. Анализ проводили с использованием колонки «Dr. Maisch Reprosil-Pur Basic C18» 100 × 2 мм с размером зёрен неподвижной фазы 3 мкм (Германия). Формирующиеся при распаде протонированных молекулярных ионов-прекурсоров $[M+H]^+$ сигналы m/z ионов-продуктов обнаруживали в режиме переходов m/z (MRM) при положительной полярности ионизации.

Определение концентрации селективных модуляторов прогестеронового рецептора, осуществляли по методу внешнего стандарта с использованием экстрактов действующих веществ из лекарственных средств и предварительным построением градуировочных зависимостей. Калибровочные растворы готовили на химически чистом метаноле путем разведения до необходимой концентрации. В качестве стандартных образцов анализируемых стероидов использовали масляные растворы препаратов: 2,5% прогестерона, 3% аглепристона, 12,5% 17-ОНПС. Гормоны из лекарственной формы экстрагировали в метанол при обработке ультразвуком в условиях водяной бани и температуре 40°C в течение получаса. Для каждого синтетического стероида готовили серию из трех стандартных растворов.

Для нивелирования влияния на результат исследований химических компонентов крови применяли технику матричной градуировки с использованием нативной (чистой) плазмы, т.е. не содержащей определяемых соединений. С этой целью в микропробирки Эппендорфа помещали по 0,1 мл чистой плазмы крови и по 0,1 мл градуировочного раствора с заранее известным содержанием анализируемого вещества. Для полноты взаимодействия веществ смесь шуттелировали в течение 15 мин. Далее вносили по 0,8 мл метилового спирта с целью преципитации балластных компонентов и экстракции ана-

Таблица 1

Условия проведения ВЭЖХ-МС/МС анализа плазмы крови в режиме MRM для исследуемых образцов

Параметр	Значение для определяемого соединения		
	Прогестерон	17-ОНРС	Аглепристон
<i>Жидкостной хроматограф</i>			
Объём вводимой пробы, мкл	5	5	5
Расход подвижной фазы, мл × мин	0,25	0,25	0,25
Состав подвижной фазы	Фаза А – вода очищенная тип I с добавкой муравьиной кислоты (0,1%); Фаза Б – ацетонитрил		
Режим элюирования, концентрация фазы Б	70% (0-0,01 мин); увеличение до 90% (0,01-5,0мин); 90% (5-10 мин)	70% (0-0,01 мин); увеличение до 90% (0,01-5,0мин); 90% (5-10мин)	60% (0,01-0,2 мин); увеличение до 90% (0,2-6 мин); 90% (6-10 мин)
Температура термостата колонок, °С	35	35	35
Время выхода пика, мин	2,72	4,20	2,25
<i>Масс-спектрометр</i>			
Тип ионизации	Электроспрей (ESI), положительная полярность		
Напряжение на конусе иглы, кВ	4,5	4,5	4,5
Температура нагревательного блока, °С	400	400	400
Температура линии десольватации, °С	250	250	250
Расход газа-осушителя, л × мин ⁻¹	15	15	15
Расход газа-распылителя, л × мин ⁻¹	3	3	3
Ион-прекурсор, а.е.м.	[M+H] ⁺ m/z 315,3	[M+H] ⁺ m/z 429,2	[M+H] ⁺ m/z 432,2
Ионы-продукты, m/z	97,10 109,05 79,10	313,20 271,20 109,10	134,05 374,25 148,10
Энергия коллизии, эВ	-23,0 315,3 → 97,1 -26,0 315,3 → 109,05 -44,0 315,3 → 79,1	-14,0 429,2 → 313,2 -18,0 429,2 → 271,2 36,0 429,2 → 109,1	-33,0 432,2 → 134,05 -23,0 432,2 → 374,25 -27,0 432,2 → 148,10
Время измерения (Dwell Time), мс	100	100	100

лизируемых гормонов. Смесь повторно встряхивали в течение получаса. Выпавшие преципитаты осаждали центрифугированием при 15000 об/мин, а супернатант сливали, а затем пропускали через шприцевой фильтр. Подготовленные по описанной схеме стандартные разведения выполняли в трех повторениях для каждой пробы. Последующая обработка данных осуществлялась путем анализа пло-

щадей хроматографических пиков и построением калибровочных зависимостей.

Пробоподготовку исследуемой плазмы крови от животных участвующих в экспериментальной работе осуществляли по следующей схеме: в микропробирки помещали по 0,1 мл исследуемой плазмы и по 0,9 мл чистого метилового спирта. Смесь встряхивали в течение получаса при температуре 20оС, после коагулиро-

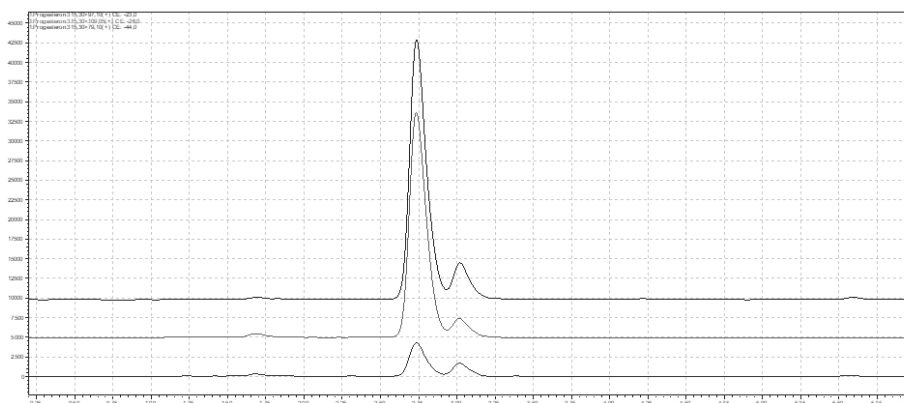


Рисунок 1. Визуализация выхода пиков прогестерона на хроматограмме при стандартном разведении прогестерона 2,5 нг/мл

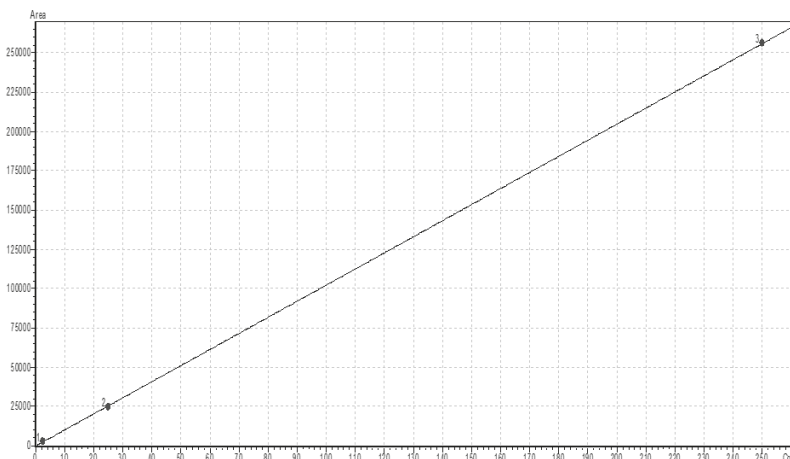


Рисунок 2. График калибровочной зависимости для определения прогестерона в плазме КРС методом ВЭЖХ МС/МС

ванные спиртом компоненты отделяли вышеописанным методом и помещали в вials прибора.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы LabSolutions LCMS 5.86.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ

Оптимальные условия определения селективных модуляторов прогестеронового рецептора в плазме крови подобранные опытным путем, приведены в таблице 1.

Для определения уровня прогестерона,

построение калибровочных кривых осуществляли путем разведения препарата до концентраций прогестина 2,5, 25,0 и 250,0 нг/мл в плазме крови не половозрелого козла (самца). Анализ экспериментальных данных свидетельствует, что время выхода пика стероида при заданном режиме происходило через 2,72 минуты (рис. 1), а оптимальным ион-прекурсором являлся $m/z=315,3$. Стоит отметить присутствие еще одного, менее высокого пика после выхода основного, что по видимости обусловлено наличием

в крови близкого по химической и физической структуре соединения. Тем не менее, данный факт не оказывал препятствий при обсчете площади пика искомого соединения.

Калибровочная зависимость, выстроенная по полученным трем точкам стандартных разведений, характеризовался высокой корреляцией повторений ($r > 0,999$) и линейностью (рис. 2).

На следующем этапе, была изучена возможность определения эндогенного уровня прогестерона у животных разработанным способом. Для этого от коров в середине лютеиновой фазы ($n=10$) и в стадию полового возбуждения ($n=10$) была получена венозная кровь. В ходе проведенной работы установлено, что у крупного рогатого скота гормон эндогенного происхождения хорошо детектируется, по параметрам, заданным для синтетического аналога. Концентрация полового стероида соответствовала референтным значениям для лютеиновой и фолликулярной фазы, что указывает на объективность разработанной методики (табл.

2).

Для построения калибровочной зависимости на 17-ОНРС использовали разведения препарата с концентрацией 1,25, 12,5 и 125 нг/мл на нативной плазме коровы в трех повторениях. Хроматограмма показала, что время выхода пика 17-ОНРС при заданном режиме происходит через 4,20 минуты, а масса оптимального ион-прекурсора составляет 429,2 а.е.м (табл. 1, рис. 3).

Калибровочный график, выстроенный по трем точкам, характеризовался высокой корреляцией значений ($r > 0,999$) и линейностью (рисунок 4).

После построения зависимостей был осуществлен первый этап по изучению возможности контроля за концентрацией данного синтетического гормона в организме КРС. С этой целью лактирующей корове однократно внутримышечно вводили 6,25 г действующего вещества в виде 12,5% раствора (50 мл). Из подвостовой вены для исследований до инъекции, в течение первых 15 дней ежедневно, а так же на 28 и 40 день опыта отби-

Таблица 2
Концентрация прогестерона в крови у коров в лютеиновую и фолликулярную фазу полового цикла установленная методом ВЭЖХ-МС/МС, нг/мл

Показатель	Лютеиновая фаза	Фолликулярная фаза
M±m	3,38±0,18	0,29±0,06
Max	4,10	0,66
Min	2,62	0,09

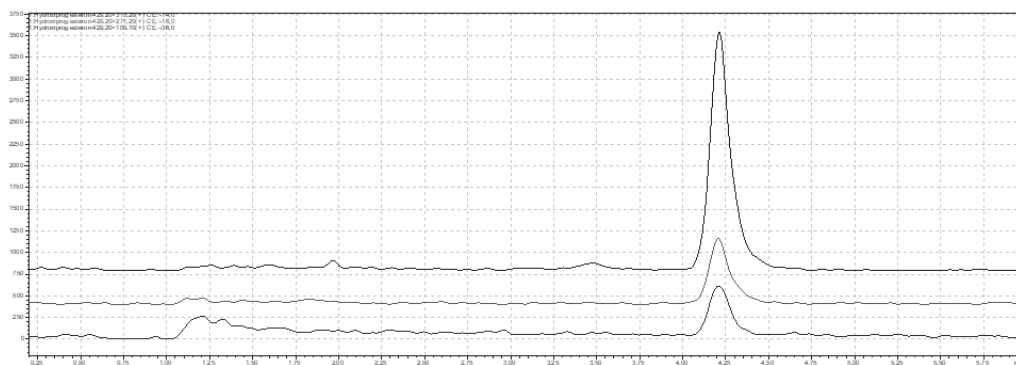


Рисунок 3. Визуализация выхода пиков 17-ОНРС при концентрации 12,5 нг/мл плазмы КРС

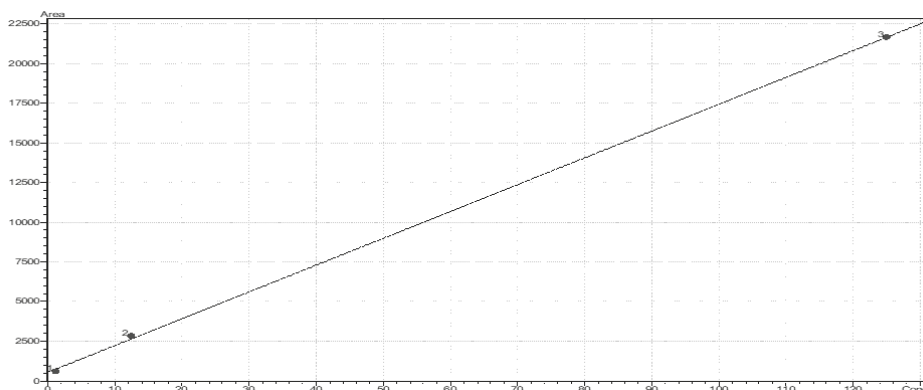


Рисунок 4. График калибровочной зависимости для определения 17-ОНРС в плазме КРС методом ВЭЖХ МС/МС

рали кровь. Полученные результаты показаны в таблице 3.

Согласно полученным данным, можно констатировать, что указанный прогестин хорошо детектируется прибором даже в низких концентрациях, и в заданных режимах, метод с успехом может использоваться для определения концентрации изучаемого стероида в плазме КРС (рис. 5).

Калибровка к аглепристону проводилась на плазме крупного рогатого скота при концентрации вещества в стандартных разведениях 1, 3 и 30 нг/мл. Выходы пиков наблюдались через 2,25 минуты, а оптимальный ион-прекурсор равнялся 432,2 а.е.м. Хроматограмма даже при низких концентрациях стероида имела низкий уровень шума (рис. 6). Построенный калибровочный график по 3 точкам характеризуется высокой корреляцией значений ($r=0,986$) и линейностью кривой.

После инъекции 20 мл 3% раствора аглепристона лактирующей корове, концентрация стероида в плазме на 2 день составила 7,2 нг/мл. Таким образом, разработанная методика позволяет провести дальнейшие исследования фармакокинетики вещества в организме крупного рогатого скота.

ВЫВОДЫ

Результаты работы показывают, что такие селективные модуляторы прогестеронового рецептора, как прогестерон, 17-

ОНРС и аглепристон хорошо детектируются методом ВЭЖХ МС/МС. Различные временные интервалы выхода пиков на хроматограмме дают возможность одновременно определять концентрацию указанных стероидов в пробе за один анализ, а установленные оптимальные условия позволяют проводить дальнейшее изучение фармакокинетических свойств после их применения.

Исследования выполнены в рамках государственного задания Минобрнауки России № 0412-2019-0051 и проекта межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня «Российская Арктика: новые материалы, технологии и методы исследования».

DETERMINATION OF THE CONCENTRATION OF SELECTIVE PROGESTERONE RECEPTOR MODULATORS IN BLOOD PLASMA BY LC-MS/MS.
Nikolaev S. V. - Candidate of Veterinary Sciences, Researcher, Zhuravsky Institute of Agrobiotechnologies of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

ABSTRACT

High-performance liquid chromatography mass spectrometry is a hybrid method and combines independent processes of liquid chromatographic separation and mass spectrometric analysis, which makes it possible to effectively determine the concentration of

Таблица 3

Фармакокинетика 17-ОНРС в плазме крови при однократной инъекции 50 мл 12,5% раствора

Дни исследований	S пика	Концентрация 17-ОНРС в плазме крови (нг/мл)
До инъекции	498	0
1 день	19710	113,5
2 день	29835	173,4
3 день	20202	116,4
4 день	14467	82,4
5 день	10681	60,0
6 день	10559	59,3
7 день	10210	57,2
8 день	7662	42,1
9 день	6662	33,2
10 день	6152	32,2
11 день	5094	26,9
12 день	5070	26,8
13 день	4597	24,0
14 день	3214	15,8
15 день	2482	12,2
28 день	1746	7,1
40 день	1386	5,0

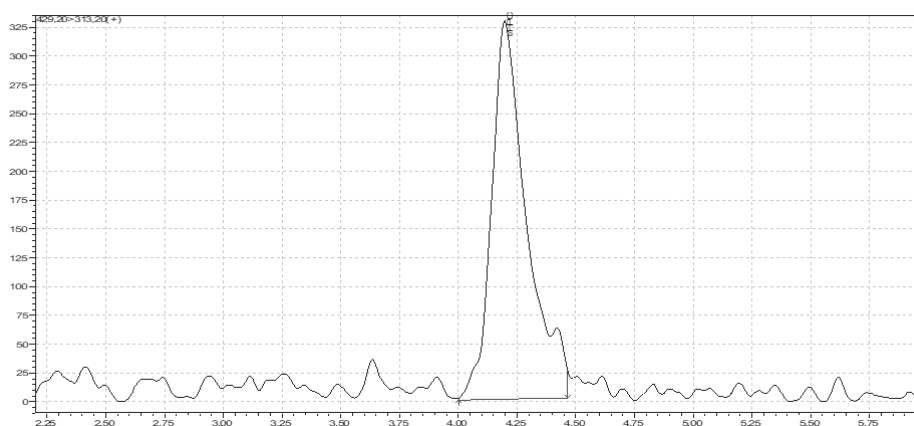


Рисунок 5. Визуализация выхода пика 17-ОНРС на хроматограмме (концентрации 12,2 нг/мл)

various substances in complex substances. The optimal parameters for the determination of progesterone, 17-hydroxyprogesterone capronate (17-ОНРС) and aglepriston in the blood plasma of cattle by this method have been established in the work. The quantitative determination of the

components was carried out by the method of an external standard using reference substances and preliminary construction of calibration dependencies (absolute calibration). To account for the effect on the result of the analysis of various components of blood plasma, the matrix calibration method was

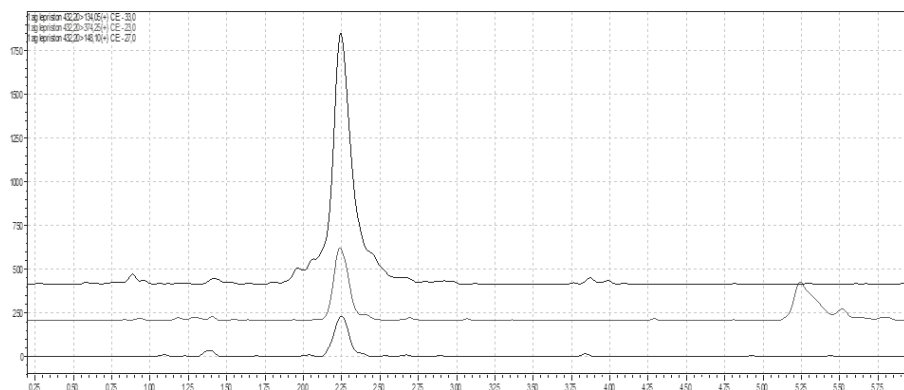


Рисунок 6. Визуализация выхода пиков аглепристона на хроматограмме (концентрации 1 нг/мл).

used using "pure" plasma, i.e., it did not contain detectable compounds. It was experimentally determined that the time of progesterone peak release is within 2.72 minutes, and the optimal precursor ion is $m/z = 315.3$. In the course of the work carried out, it was found that in the blood plasma of animals, endogenous progesterone is well detected by the developed method according to the parameters set for the synthetic analogue. The peak time of 17-OHPC occurred after 4.20 minutes, and the optimal precursor ion had a mass of 429.2 au. The first stage of studying the kinetics of 17-HPC in cattle showed that the steroid is well visualized on the chromatogram even in low concentrations. The outputs of the peaks of aglepriston were observed at 2.25 minutes, and the optimal precursor ion was equal to 432.2 au.m. The chromatogram even at low concentrations of the steroid had a low noise level, and the concentration of the steroid in the blood plasma a day after injection of 20 ml of 3% aglepriston solution to a lactating cow was 7.2 ng/ml. Thus, optimal parameters were selected for determining the concentration of selective progesterone receptor modulators in the blood plasma of cattle, which allows for further evaluation of the pharmacokinetic properties of these steroids after their use.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Enzyme linked immunosorbent assay screening then indirect immunofluorescence conformation of antinuclear antibodies / Copple S.S. [et all] // American society for

- clinical pathology. – 2011. – Vol. 135. – P. 678-684.
 2. Garber, E. Detection of melamine using commercial enzyme linked immunosorbent assay technology / E. Garber // Journal of food protection. – 2008. – Vol. 71, № 3. – P. 590-594.
 3. Meis PJ, Klebanoff M, Thom E, Dombrowski MP, Sibai B, Moawad AH, et al. . Prevention of recurrent preterm delivery by 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate. N Engl J Med. (2003) 348:2379–85.
 4. Santhosh, C. R. (2006). Pharmacokinetics of 17 α -Hydroxy Progesterone Caproate in Cattle, Buffalo, Sheep and Goat (Doctoral dissertation, Karnataka Veterinary, Animal and Fisheries Sciences University, Bidar). <http://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/68575>
 5. Vittorio, A., Brigandi, A., Costabile, L., Abate, F.G., Balzano, E. and Perino, M., 17-alpha-Hydroxyprogesterone caproate and natural progesterone in assisted reproduction: a comparative study. Clin. Exp. Obstet. Gynecol. (2004), 24:190-2.
 6. Бессонова Е.А. Хроматографическое и электрофоретическое определение стероидов и биогенных аминов в биологических объектах // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук Санкт-Петербург, 2004. – 20 С.
 7. Николаев С.В., Конопельцев И.Г. Пиометра у коров: распространение и терапия // Ветеринария. 2020. № 12. С. 39-43. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.12.39-43

УДК 619:616-07(08):616.6

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.148

КОРРЕЛЯТИВНЫЕ СВЯЗИ МАЛЬНУТРИЦИИ И НАРУШЕНИЙ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗА ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ЭНТЕРОПАТИИ У СОБАК С ВЫРАЖЕННЫМ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ

Ушакова Т.М.- к.вет.н., доц., зав. каф. терапии и пропедевтики ФГБОУВО «Донской государственный аграрный университет», Персиановский, Россия- ORCID 0000-0002-8634-268X, Дерезина Т.Н.- д.вет. н., проф., зав.каф. биологии и общей патологии ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет» (ДГТУ) (ORCID 0000-0002-5361-6656)

Ключевые слова: аллергическая энтеропатия, собаки, редокс-гомеостаз, мальнурития. **Key words:** allergic enteropathy, dogs, redox homeostasis, malnutrition.



РЕФЕРАТ

Синдром мальнуритии имеет широкое распространение при аллергической энтеропатии у собак, обуславливая нарушение всасывания и транспорта питательных субстратов в слизистой оболочке кишечника, что служит пусковым механизмом для последующих метаболических изменений в гастроинтестинальной системе, затрагивая гепатоциты посредством активации процессов перекисного окисления липидов и развития сдвигов в системе редокс-гомеостаза. В результате проведенных биохимических и морфологических исследований крови больных животных при аллергической энтеропатии с выраженным гастроинтестинальным синдромом было установлено нарушение метаболических процессов (Т-Pro – 59,46±0,32 г/л и 63,34±0,53 г/л; ALB – 19,71±0,64 г/л и 18,56±0,50 г/л; GLB – 39,75±0,82 г/л и 44,78±0,96 г/л; A/G – 0,49±0,06 и 0,41±0,08; RBC – 5,85±0,17×10¹²/л и 5,67±0,16×10¹²/л; Na – 134,50±6,10 mmol/l и 130,80±5,97 mmol/l; K – 3,43±0,10 mmol/l и 3,40±0,09 mmol/l; Ca – 2,15±0,07mmol/l и 2,13±0,06 mmol/l), редокс-гомеостаза (ALT – 108,95±11,00 U/l и 115,73±9,39 U/l; AST – 62,90±6,05 U/l и 60,30±5,80 U/l; ALP – 196,05±19,20 U/l и 210,20±23,91 U/l) вследствие активации процессов перекисного окисления липидов (MDA – 23,10±1,06 μmol/ml и 24,25±1,40 μmol/ml; DK – 1,08±0,15 uA/ml и 1,15±0,09 uA/ml) и истощения антиоксидантного потенциала (CT – 0,54±0,02 Bach units и 0,55±0,03 Bach units; SOD – 18,23±1,59 EU/mg protein per minute и 19,98±1,91 EU/mg protein per minute; GSH-Px – 26,69±2,46 μmol/ml и 28,31±3,02 μmol/ml; Vitamin A – 0,66±0,05 mcg/ml и 0,59±0,03 mcg/m; Vitamin E – 8,49±0,90 mcg/ml и 7,87±0,98 mcg/ml). Выявлено наличие прямых коррелятивных связей между уровнем трофологических нарушений вследствие развития синдрома кишечной мальабсорбции и степенью расстройств редокс-гомеостаза.

ВВЕДЕНИЕ

Широкое распространение в гастроэнтерологической практике нарушений всасывания и последующего транспорта переваренных питательных субстратов в слизистой оболочке кишечника обуслов-

ливает увеличение инцидентности последующих осложнений, вызванных вовлечением в патологический процесс компонентов гепаторенальной системы на фоне расстройств редокс-гомеостаза [1, 2, 3, 4]. Активации процессов перекисного окис-

Таблица 1
Маркеры мальнутриции собак при аллергической энтеропатии с выраженным гастроинтестинальным синдромом

Показатели	Группа животных						Референсные значения
	Опытная 1-я (n=10)			Опытная 2-я (n=10)			
	X±Sx	maxX	minX	X±Sx	max X	minX	
Эритроциты (RBC), ×10 ¹² /л	5,85±0,17**	6,03	5,68	5,67±0,16**	5,83	5,51	5,20-8,40 6,80±0,31
Лейкоциты (WBC), ×10 ⁹ /л	15,59±0,30**	15,89	15,30	16,09±0,45* *	16,54	15,64	8,00-17,00 12,32±1,04
Гемоглобин (Hb), g/l	134,72±2,49*	137,21	132,23	129,90±2,53* *	132,43	127,27	110,00-180,00 144,00±4,09
Гематокрит (HCT), %	43,00±0,20***	43,20	42,80	42,00±0,30* **	42,30	41,80	37,00-55,00 46,14±0,57
Общий белок (T-Pro), g/l	59,46±0,32***	59,80	59,08	63,34±0,53	64,01	62,80	54,00-77,00 65,20±1,18
Альбумин (ALB), g/l	19,71±0,64***	20,40	19,07	18,56±0,50* **	19,07	18,01	25,0-37,00 31,40±1,57
Глобулины (GLB), g/l	39,75±0,82**	40,57	38,90	44,78±0,96* **	45,74	43,82	25,00-45,00 35,20±1,21
Белковый коэффициент (A/G)	0,49±0,06***	0,50	0,49	0,41±0,08** *	0,42	0,41	0,80-1,00 0,92±0,10
Глюкоза (GLU), mmol/l	4,71±0,23	4,99	4,48	4,57±0,40	4,97	4,12	3,30-6,10 4,74±0,36
Холинэстераза (CHS), U/l	2415,30±40,10* **	2460,40	2375,20	2349,16±34,30***	2380,90	2314,86	2000,00-4000,00 3025,07±36,90
Мочевина (UREA), μmol/l	9,10±1,60	10,70	7,50	9,24±1,50	10,75	7,70	5,70-12,90 9,34±2,07
Креатинин (CREA), μmol/l	90,50±7,20	97,70	83,30	92,15±8,05	100,20	84,10	55,00-106,00 83,54±5,91
Натрий (Na), mmol/l	134,50±6,10*	140,60	128,40	130,80±5,97* *	136,77	124,83	140,00-153,00 146,80±6,58
Калий (K), mmol/l	3,43±0,10***	3,53	3,33	3,40±0,09** *	3,49	3,31	3,50-5,50 4,60±0,18
Кальций общий (Ca), mmol/l	2,15±0,07***	2,22	2,08	2,13±0,06** *	2,1	2,07	2,18-2,95 2,58±0,09
Фосфор неорганический (P), mmol/l	1,72±0,30	2,02	1,42	1,69±0,20	1,89	1,49	0,90-2,00 1,49±0,35
Иммуноглобулин E крови (Ig E), U/ml	380,40±26,86** *	407,26	353,54	399,10±27,50***	426,60	371,60	2,00-6,00 4,30±0,27

Примечание: * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 в сравнении с показателем контрольной группы

Таблица 2
Маркеры редокс-гомеостаза у собак при аллергической энтеропатии с выраженным гастроинтестинальным синдромом

Показатели	Группа животных						Референсные значения
	Опытная 1-я (n=10)			Опытная 2-я (n=10)			
	X±Sx	maxX	minX	X±Sx	maxX	minX	
МДА (MDA), μmol/ml	23,10±1,06***	24,16	22,04	24,25±1,40***	25,65	22,85	12,81-20,00 16,20±1,30
Дниевые конъюгаты (DK), uA/ml	1,08±0,15***	1,23	0,93	1,15±0,09**	1,24	1,06	0,12-0,24 0,19±0,03
Щелочная фосфатаза (ALP), U/l	196,05±19,20	215,25	176,85	210,20±23,91	234,11	186,29	50,00-290,00 173,26±15,32
Аланинаминотрансфераза (ALT), U/l	108,95±11,00**	120,01	97,90	115,73±9,39***	125,14	106,34	10,00-65,00 37,90±3,47
Аспаратаминотрансфераза (AST), U/l	62,90±6,05***	68,95	56,85	60,30±5,80***	66,10	54,50	0,00-37,00 19,72±3,26
Каталаза (CT), Bachunits	0,54±0,02***	0,56	0,52	0,55±0,03*	0,58	0,52	0,24-0,62 0,43±0,02
Супероксиддисмутаз (SOD), EU/mg protein per minute	18,23±1,59*	19,82	16,64	19,98±1,91*	21,89	18,07	10,60-16,50 13,76±1,01
Глутатионпероксидаза (GSH-Px), μmol/ml	26,69±2,46*	29,15	24,23	28,31±3,02*	31,33	25,29	15,00-21,00 18,70±3,15
Витамина (Vitamin A), mcg/ml	0,66±0,05***	0,71	0,61	0,59±0,03**	0,62	0,56	0,57-1,43 1,02±0,06
ВИТАМИНЕ (VITAMINE), MCG/ML	8,49±0,90**	9,39	7,59	7,87±0,98*	8,85	6,89	3,77-20,96 12,76±0,80
Витамин С (Vitamin C), mcg/ml	5,47±0,43	5,90	5,04	5,04±0,25	5,29	4,79	3,52-11,44 7,40±0,30

Примечание: * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 в сравнении с показателем контрольной группы

ления липидов в гепатоцитах является ведущим пусковым механизмом развития сдвигов редокс-гомеостаза при аллергической энтеропатии у собак, вызванной избытком кормов, богатых аллергенами,

незрелостью ферментных систем и дисбиотическими состояниями [5, 6, 7, 8]. В связи с этим, разработка выверенного диагностического алгоритма аллергической энтеропатии у собак с выраженным

гастроинтестинальным синдромом с учётом характера корреляционных связей между степенью мальнутриции и уровнем редокс-гомеостаза является актуальным направлением в условиях современной клинической ветеринарной медицины.

Цель исследований – установить коррелятивные связи мальнутриции и нарушений редокс-гомеостаза при аллергической энтеропатии у собак с выраженным гастроинтестинальным синдромом. Для реализации намеченной цели были поставлены следующие задачи: изучить клинический статус животных, морфологические и биохимические показатели крови собак, больных аллергической энтеропатией с выраженным гастроинтестинальным синдромом, оценить характер мальнутриции и расстройств редокс-гомеостаза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научные исследования были выполнены в течение 2020–2022 гг. в ФГБОУ ВО «Донской ГАУ» и в ветеринарном центре «Амиго» (г. Ростов-на-Дону). Объектом исследований служили 20-ть собак, больных аллергической энтеропатией с выраженным гастроинтестинальным синдромом, средних пород в возрасте от 6-ти месяцев до 2-х лет, из которых по принципу пар-аналогов были сформированы две группы – опытная 1-я и опытная 2-я. В каждой группе было по 10-ть животных. Контролем служили 10-ть клинически здоровых собак. Группы формировались по мере поступления животных в ветеринарную клинику. Клиническое обследование больных животных проводилось по общепринятой методике. Критерием для постановки диагноза являлось наличие характерных симптомов поражения гастроинтестинальной системы (рвота, диарея, синдром мальнутриции или энтеропатия с потерей белков, дисфагия) и кожи (прурит, сухость кожного покрова), развивающихся после приема корма, специфическая динамика заболевания, и результаты морфологических, биохимических и иммунологических исследований сыворотки крови больных животных.

Кровь для морфологических, биохимических и иммунологических исследований брали из подкожной вены предплечья животных. Для оценки степени мальнутриции у собак, больных аллергической энтеропатией, учитывали: клинический анализ крови (метод клеточно-специфичного лизиса и автоматический подсчет клеток с использованием кондуктометрии и гидродинамической фокусировки, колориметрический метод для определения концентрации гемоглобина), уровень общего - Т-Рго (колориметрия с биуретовым реактивом), уровень альбуминов – ALB (колориметрия с бромкрезоловым зеленым), уровень глобулинов – GLB (метод капиллярного электрофореза), уровень глюкозы – GLU (кексокиназный метод), уровень холинэстеразы - CHS (метод с S-бутиртиохолин-йодидом), уровень креатинина – CREA (кинетический метод по Яффе (IDMS)), уровень мочевины - UREA (реакция с диацетилмонооксиомом в сильно окисленной среде в присутствии тиосемикарбазида и ионов трёхвалентного железа), уровень натрия – Na и калия – K (ион-селективный непрямой метод), уровень общего кальция - Ca (метод колориметрии с O-крезолфталеином), уровень неорганического фосфора - P (колориметрический метод с молибдатом аммония – фосфора), количество иммуноглобулина E – IgE (метод хемилюминесцентного иммуноанализа) в сыворотке крови исследуемых особей.

С целью оценки состояния редокс-гомеостаза у собак, больных аллергической энтеропатией, учитывали: уровень аланинаминотрансферазы - ALT и аспаратаминотрансферазы - AST (кинетический UV-метод (оптимизированный метод DGKC)), уровень щелочной фосфатазы - ALP (колориметрический метод с р-нитрофенолом), уровень малонового диальдегида - MDA (тиобарбитуровый метод), уровень диеновых конъюгатов – DK (спектрофотометрический методом), уровень каталазы – CT (метод А.Н. Баха и С.Р. Зубковой), уровень глутатионпероксидазы - GSH-Px (метод высокоэффектив-

ной жидкостной хроматографии), уровень супероксиддисмутазы – SOD (метод высокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии), уровень витамина А и витамина Е (метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием), уровень витамина С (метод высокоэффективной жидкостной хроматографии) в сыворотке крови исследуемых особей.

Обработку результатов исследований проводили методом вариационной статистики с использованием интегрированной системы для комплексного статистического анализа и обработки данных в системе Windows STATISTICA, с использованием критерия Стьюдента по правилам вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Пищевой анамнез больных животных: питание регулярное, двухразовое, с умеренным содержанием калорий. Отмечены аллергические реакции на продукты питания (яйца, молоко, свинина). Основной рацион: овощи (отварной картофель - 67,0 ккал/100,0 г), злаки (рис - 119,0 ккал/100,0 г овсяная крупа - 88,0 ккал/100,0 г), мясо (отварная индейка - 105,0 ккал/100,0 г; баранина - 194,0 ккал/100,0 г; отварное мясо курицы - 257,0 ккал/100,0 г). Рацион включал в себя 475,0 г белка и 500,0 г углеводов, подсолнечное масло – 15,0 - 20,0 мл и витаминно-минеральные добавки, при этом суточная норма потребления составляла 870,0 г – для собаки массой 15,0 кг; энергетическая ценность 1,0 кг рациона равнялась 1140,0 ккал. Помимо основного рациона больным животным регулярно доставались остатки со стола, содержащие специи и соль, а также конфеты, орехи, печенье, сыр, колбаса и хлеб.

У животных, больных аллергической энтеропатией с выраженным гастроинтестинальным синдромом, были выявлены признаки тахикардии (число сердечных сокращений – 133,00±5,00 уд/мин и 136,00±4,50 уд/мин), тахипноэ (частота дыхательных движений - 39,10±1,40 дых. движ/мин и 40,70±1,90 дых. движ/мин),

отмечалось развитие субфебрильной лихорадки (температура тела - 39,50 ± 0,200 С и 39,30 ± 0,400 С), умеренной астении, многократной рвоты, диареи, анорексии, прурита, сухости кожного покрова.

Аллергическая природа энтеропатии у собак (Ig E - 380,40±26,86 U/ml и Ig E - 399,10±27,50 U/ml (maxX – 6,02 U/ml и 9,24 U/ml minX – 5,80 U/ml и 7,36 U/ml)) способствовала развитию значительных расстройств трофологического статуса, что проявлялось развитием гипопротеинемии (Т-Pro – 59,46±0,32 g/l и 63,34±0,53 g/l (maxX – 59,80 g/l и 64,01 g/l; minX – 59,08 g/l и 62,80 g/l)) и диспротеинемии (ALB – 19,71±0,64 g/l и 18,56±0,50 g/l (maxX – 20,40 g/l и 19,07 g/l; minX – 19,07 g/l и 18,01 g/l); GLB – 39,75±0,82 g/l и 44,78±0,96 g/l (maxX – 40,57 g/l и 45,74 g/l; minX – 38,90 g/l и 43,82 g/l); A/G – 0,49±0,06 и 0,41±0,08 (maxX – 0,50 и 0,42; minX – 0,49 и 0,41)) вследствие нарушения процессов всасывания в тонком отделе кишечника (табл. 1). Проявление мальабсорбции у больных собак наряду с нарушением протеинсинтезирующей функции печени способствовало развитию гипоальбуминемии (ALB – 19,71±0,64 g/l и 18,56±0,50 g/l) и снижению уровня холинэстеразы (CHS - 2415,30±40,10 U/l и 2349,16±34,30 U/l (maxX – 2460,40 U/l и 2380,90 U/l; minX – 2375,20 U/l и 2314,86 U/l)).

У собак, больных аллергической энтеропатией с выраженным гастроинтестинальным синдромом, было выявлено снижение концентрации гемоглобина (Hb - 134,72±2,49 g/l и 129,90±2,53 g/l) и количественного показателя эритроцитов (RBC - 5,85±0,17×10¹²/l и 5,67±0,16×10¹²/l), а также гематокритной величины (HCT - 43,00±0,20 % и 42,00±0,30 %) по сравнению со средней арифметической величиной референсных значений вследствие развития мальнутриции и нарушения гемопоэтической функции печени (табл. 1). Кроме того, развитие воспалительного процесса в гастроинтестинальной системе у больных собак сопровождалось проявлением лейкоцитоза (WBC - 15,59±0,30×10⁹/l и

16,09±0,45×10⁹/l). Экстремальные элементы вариационного ряда опытных групп были представлены следующим образом: RBC (maxX – 6,03×10¹²/l и 5,83×10¹²/l; minX – 5,68×10¹²/l и 5,51×10¹²/l), WBC (maxX – 15,89×10⁹/l и 16,54×10⁹/l; minX – 15,30×10⁹/l и 15,64×10⁹/l), Hb (maxX – 137,21 g/l и 132,43 g/l; minX – 132,23 g/l и 127,27 g/l), HCT (maxX – 43,20 % и 42,30 %; minX – 42,80 % и 41,80 %).

Отмечалось достоверное изменение электролитного состава крови у собак, больных аллергической энтеропатией, вследствие развития мальабсорбции, что сопровождалось развитием гипонатриемии (табл.1).

В результате проведенных исследований было установлено увеличение концентрации малонового диальдегида, являющегося основным маркером оксидативного стресса, у животных обеих опытных групп. Так же у больных животных обеих опытных групп отмечалось повышение концентрации диеновых конъюгатов, являющимися первичными продуктами свободнорадикальной реакции липидов, их концентрация возрастала на 468,42 % и 505,26 % по группам соответственно (табл. 2). Крайние элементы вариационного ряда были представлены по опытным группам следующим образом: MDA (maxX – 24,16 μmol/ml и 25,65 μmol/ml; minX – 22,04 μmol/ml и 22,85 μmol/ml), DK (maxX – 1,23 uA/ml и 0,93 uA/ml; minX – 1,24 uA/ml и 1,06 uA/ml).

Ферментативное звено антиоксидантной системы у больных животных характеризовалось возрастанием активности каталазы (CT - 0,54±0,02 Bach units и 0,55±0,03 Bach units), супероксиддисмутазы (SOD - 18,23±1,59 EU/mg protein per minute и 19,98±1,91 EU/mg protein per minute) и глутатионпероксидазы (GSH-Px - 26,69±2,46 μmol/ml и 28,31±3,02 μmol/ml), что свидетельствовало об истощении эндогенной системы антиоксидантной защиты организма. При этом активность каталазы у собак опытной 1-й группы превышала значение контрольной группы на 25,58 %, а опытной 2-й – на 27,91 %, супероксиддисмутазы - на 32,48 % и 45,20 %, глутатионпероксидазы – на 42,73 % и 51,39 % по группам соответственно (табл. 2). Экстремальные элементы вариационного ряда были представлены по опытным группам следующим образом: CT (maxX – 0,56 Bach units и 0,58 Bach units; minX – 0,52 Bach units и 0,52 Bach units), SOD (maxX – 19,82 EU/mg protein per minute и 21,89 EU/mg protein per minute; minX – 16,64 EU/mg protein per minute и 18,07 EU/mg protein per minute), GSH-Px (maxX – 29,15 μmol/ml и 31,33 μmol/ml; minX – 24,23 μmol/ml и 25,29 μmol/ml).

Показатели неферментативного звена антиоксидантной системы у собак, больных аллергической энтеропатией с выраженным гастроинтестинальным синдромом, характеризовались достоверным снижением уровня витамина А (VitaminA - 0,66±0,05 mcg/ml и 0,59±0,03 mcg/ml) в опытной 1-й группе на 35,29 % по сравнению со значением контрольной группы и на 42,15 % - в опытной 2-й, витамина Е (Vitamin E - 8,49±0,90 mcg/ml и 7,87±0,98 mcg/ml) - на 33,46 % и 38,32 % соответственно по группам (табл. 2). При этом крайние элементы вариационного ряда были представлены по опытным группам следующим образом: VitaminA (maxX – 0,71 mcg/ml и 0,62 mcg/ml; minX – 0,61 mcg/ml и 0,56 mcg/ml), Vitamin E (maxX – 9,39 mcg/ml и 8,85 mcg/ml; minX – 7,59 mcg/ml и 6,89 mcg/ml), VitaminC (maxX – 5,90 mcg/ml и 5,29 mcg/ml; minX – 5,04 mcg/ml и 4,79 mcg/ml).

Расстройство редокс-гомеостаза у собак при аллергической энтеропатии с выраженным гастроинтестинальным синдромом способствовало достоверному увеличению уровня ферментов цитозоля: аланинаминотрансферазы (ALT - 108,95±11,00 U/l и 115,73±9,39 U/l (maxX – 120,01 U/l и 125,14 U/l; minX – 97,90 и 106,34 U/l)), аспартатаминотрансферазы (AST - 62,90±6,05 U/l и 60,30±5,80 U/l (maxX – 68,95 U/l и 66,10 U/l; minX – 56,85 U/l и 54,50 U/l)) и фермента билиарного полюса – щелочной фосфатазы (ALP - 196,05±19,20 U/l и 210,20±23,91 U/l (maxX – 215,25 U/l и 234,11 U/l; minX – 176,85 U/l и 186,29 U/l)).

ВЫВОДЫ

Полученные результаты исследований свидетельствуют о развитии прямых коррелятивных связей между степенью развития мальнутриции и характером расстройств редокс-гомеостаза у собак, больных аллергической энтеропатией с выраженным гастроинтестинальным синдромом. При этом ведущим патогенетическим аспектом расстройства метаболических процессов (T-Pro – 59,46±0,32 g/l и 63,34±0,53 g/l; ALB – 19,71±0,64 g/l и 18,56±0,50 g/l; GLB – 39,75±0,82 g/l и 44,78±0,96 g/l; A/G – 0,49±0,06 и 0,41±0,08; RBC – 5,85±0,17×10¹²/л и 5,67±0,16×10¹²/л; Na – 134,50±6,10 mmol/л и 130,80±5,97 mmol/л; K – 3,43±0,10 mmol/л и 3,40±0,09 mmol/л; Ca – 2,15±0,07 mmol/л и 2,13±0,06 mmol/л) у больных собак выступает развитие оксидативного стресса (ALT – 108,95±11,00 U/l и 115,73±9,39 U/l; AST – 62,90±6,05 U/l и 60,30±5,80 U/l; ALP – 196,05±19,20 U/l и 210,20±23,91 U/l) вследствие активации процессов перекисного окисления липидов (MDA – 23,10±1,06 μmol/ml и 24,25±1,40 μmol/ml; DK – 1,08±0,15 uA/ml и 1,15±0,09 uA/ml) и истощения антиоксидантного потенциала (CT – 0,54±0,02 Bach units и 0,55±0,03 Bach units; SOD – 18,23±1,59 EU/mg protein per minute и 19,98±1,91 EU/mg protein per minute; GSH-Px – 26,69±2,46 μmol/ml и 28,31±3,02 μmol/ml; Vitamin A – 0,66±0,05 mcg/ml и 0,59±0,03 mcg/m; Vitamin E – 8,49±0,90 mcg/ml и 7,87±0,98 mcg/ml) на фоне нарушения всасывания и последующего транспорта адекватно переваренных питательных субстратов в слизистой оболочке кишечника сенсibilизированного организма (Ig E – 380,40±26,86 U/ml и Ig E – 399,10±27,50 U/ml).

Следовательно, диагностический алгоритм при аллергической энтеропатии у собак должен осуществляться с учётом характера коррелятивных связей между уровнем трофологических нарушений вследствие развития синдрома кишечной мальабсорбции и степенью расстройств редокс-гомеостаза, опираясь на результаты биохимических и морфологических

исследований крови, отражающих активность основных маркеров нутритивного статуса, показателей оксидативного стресса и состояния антиоксидантных систем организма. Таким образом, степень вовлечения в патологический процесс гастроинтестинальной системы коррелирует с характером расстройств редокс-гомеостаза (ALT – 108,95±11,00 U/l и 115,73±9,39 U/l; AST – 62,90±6,05 U/l и 60,30±5,80 U/l; ALP – 196,05±19,20 U/l и 210,20±23,91 U/l), усугубляя нарушение белково-энергетического обмена (T-Pro – 59,46±0,32 g/l и 63,34±0,53 g/l; ALB – 19,71±0,64 g/l и 18,56±0,50 g/l; GLB – 39,75±0,82 g/l и 44,78±0,96 g/l; A/G – 0,49±0,06 и 0,41±0,08) на фоне синдрома кишечной мальабсорбции (RBC – 5,85±0,17×10¹²/л и 5,67±0,16×10¹²/л; Na – 134,50±6,10 mmol/л и 130,80±5,97 mmol/л; K – 3,43±0,10 mmol/л и 3,40±0,09 mmol/л; Ca – 2,15±0,07 mmol/л и 2,13±0,06 mmol/л; CHS – 2415,30±40,10 U/l и 2349,16±34,30 U/l) у собак, больных аллергической энтеропатией (Ig E – 380,40±26,86 U/ml и Ig E – 399,10±27,50 U/ml).

CORRELATIVE RELATIONS OF MALNUTRITION AND REDOX HOMEOSTASIS DISORDERS IN ALLERGIC ENTEROPATHY IN DOGS WITH SEVERE GI SYNDROME. Ushakova T.M., Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Therapy and Propaedeutics, Don State Agrarian University, Persianovskiy, Russia – ORCID 0000-0002-8634-268X, Derezhina T.N., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Biology and General Pathology, Don State Technical University (DSTU), Rostov-on-Don, Russia ORCID 0000-0002-5361-6656

ABSTRACT

Malnutrition syndrome is widespread in allergic enteropathy in dogs, causing a violation of absorption and transport of nutrient substrates in the intestinal mucosa, which serves as a trigger for subsequent metabolic changes in the gastrointestinal system, affecting hepatocytes through the activation of lipid peroxidation processes and the development of shifts in the redox system. homeo-

stasis. As a result of biochemical and morphological studies of the blood of sick animals with allergic enteropathy with severe gastrointestinal syndrome, a violation of metabolic processes was established (T-Pro - 59.46 ± 0.32 g/l and 63.34 ± 0.53 g/l; ALB - 19.71 ± 0.64 g/l and 18.56 ± 0.50 g/l; GLB - 39.75 ± 0.82 g/l and 44.78 ± 0.96 g/l; A/G - 0.49 ± 0.06 and 0.41 ± 0.08 ; RBC - $5.85 \pm 0.17 \times 10^{12}/l$ and $5.67 \pm 0.16 \times 10^{12}/l$; Na - 134.50 ± 6.10 mmol/l and 130.80 ± 5.97 mmol/l, K - 3.43 ± 0.10 mmol/l and 3.40 ± 0.09 mmol/l, Ca - 2.15 ± 0.07 mmol/l and 2.13 ± 0.06 mmol/l), redox homeostasis (ALT - 108.95 ± 11.00 U/l and 115.73 ± 9.39 U/l; AST - 62.90 ± 6.05 U/l and 60.30 ± 5.80 U/l; ALP - 196.05 ± 19.20 U/l and 210.20 ± 23.91 U/l) due to activation of lipid peroxidation processes (MDA - 23.10 ± 1.06 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ and 24.25 ± 1.40 $\mu\text{mol}/\text{ml}$; DK - 1.08 ± 0.15 uA/ml and 1.15 ± 0.09 uA/ml) and antioxidant potential depletion (CT - 0.54 ± 0.02 Bach units and 0.55 ± 0.03 Bach units; SOD - 18.23 ± 1.59 EU/mg protein per minute and 19.98 ± 1.91 EU/mg protein per minute; GSH-Px - 26.69 ± 2.46 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ and 28.31 ± 3.02 $\mu\text{mol}/\text{ml}$; Vitamin A - 0.66 ± 0.05 mcg/ml and 0.59 ± 0.03 mcg/m; Vitamin E - 8.49 ± 0.90 mcg/ml and 7.87 ± 0.98 mcg/ml). The presence of direct correlations between the level of trophological disorders due to the development of intestinal malabsorption syndrome and the degree of redox homeostasis disorders was revealed.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Александрович, Ю.С. Скрининговые методы оценки нутритивного риска у госпитализированных детей / Ю.С. Александрович, И.В. Александрович,

К.В. Пшениснов // Вестник интенсивной терапии. - 2015. - №3. - С. 25-30.

2. Байматов, В.Н. Морфофункциональная диагностика заболеваний печени у животных // Современные вопросы ветеринарной медицины и биологии. 2000. - С. 23-25.

3. Василевская, С.А. Мальнотриция: верификация, антропометрические и лабораторные характеристики / С. А. Василевская, Ю. Х. Мараховский, В. П. Калачик // Проблемы здоровья и экологии. - 2009. - № 2(20). - С. 66-74.

4. Ушакова Т.М., Корреляция мальнотриции и гепатопривного синдрома при аллергической энтеропатии у собак / Т.М. Ушакова, Т.Н. Дерезина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2020. - № 3 (83). - С. 236-240.

5. Головач, Т.Н. Причины возникновения пищевой аллергии и пути ее снижения / Т.Н. Головач, А.А. Иванов, Н.Н. Яцков, В.П. Курченко // Педиатрия. 2010. - № 2. — С. 132-137.

6. Кувшинников, Д.А. Диагностика и терапия аллергических энтеропатий у собак / Д.А. Кувшинников: Автореф. дисс. ... кан-таветерин. наук. – Персиановский, 2009. – 16 с.

7. Митрофанова, Е.В. Основные причины возникновения пищевых аллергий домашних животных в условиях урбанизированных территорий / Е.В. Митрофанова // Евразийский союз ученых. - 2016. - № 5-4 (26). - С. 99-100.

8. Пампура, А.Н. Классификация и клинические проявления пищевой аллергии / А.Н. Пампура, А.И. Хавкин // Русский медицинский журнал. 2003. — Т.11. - № 20. — 56 с.

УДК: 611.37-018:636.2

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.156

ОСОБЕННОСТИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ТКАНЕЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ПРИМЕРЕ БЫКА ДОМАШНЕГО

Бартенева Ю.Ю. – к.вет. н., доц., доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0003-4581-2187), Прусаков А.В. – д. вет. н., доц., зав. каф. внутренних болезней животных им. Си-
нева А.В. (ORCID 0000-0001-5582-5155), Зеленевский Н.В. - д. вет. н., проф., проф. каф.
анатомии животных (ORCID 0000-0001-6679-6978) (ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет ветеринарной медицины»).

Ключевые слова: поджелудочная железа, эндокринные железы, пищеварительная система, паренхиматозный орган, бык домашний.

Key words: pancreas, endocrine glands, digestive system, parenchymal organ, domestic bull.



РЕФЕРАТ

Цель исследования заключалась в установлении особенностей гистологической организации тканей поджелудочной железы на примере быка домашнего. Для его проведения использовали образцы тканей поджелудочной железы пяти половозрелых годовалых коров черно-пестрой породы, полученные путем биопсии. Отобранный материал фиксировали в 10,0% растворе нейтрального формалина в течение суток, после чего по общепринятой методике осуществляли его заливку в парафин. Из полученных блоков изготавливали гистологические срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону и трихромом по Массону. Установлено, что исследуемый орган у изученных животных относится к сложным альвеолярно-трубчатым железам. Снаружи он покрыт нежной соединительнотканной капсулой, дающей начало соединительнотканным тяжам (трабекулам), проходящим между его долек. В составе данных структур выявляются сосудистые элементы, нервные стволы и выводные протоки. Сама железа, в соответствии с выполняемой ею функцией, включает две части – эндокринную и экзокринную. Концевые отделы ее экзокринной части представлены панкреатическими ацинусами. В составе последнего можно выделить два отдела - секреторный (сформирован серозными эндокриноцитами) и протоковый (сформирован эпителиальными клетками (центрацинозными) начальных участков вставочных выводных протоков). В состав секреторного отдела ацинуса входит от семи до одиннадцати клеток, имеющих пирамидальную форму. Они содержат одно хорошо развитое базофильное округлое ядро, а в их цитоплазме выявляются две зоны. Базальная – гомогенная – зона имеет базофильную окраску и располагается в базальной части клетки. Апикальная – зимогенная (верхушечная) – зона содержит гранулы секрета и окрашена оксифильно. Эндокринная часть железы представлена панкреатическими островками (островками Лангерганса), сформированными тяжами тесно связанных между собой эндокринных клеток (исулоцитов), окруженных обильными капиллярными петлями, формирующими внутри островка разветвленные сети. Инсулоциты – клетки небольшого размера, имеющие полигональную форму со слабо очерченной границей. В их составе выявляется одно округлое или овальное ядро, содержащее равномерно распределенный мелкоглыбчатый хроматин.

ВВЕДЕНИЕ

Поджелудочная железа представляет собой уникальный орган. В ее составе можно выделить две различные по выполняемым функциям части – экзокринную и эндокринную. За счет экзокринной части, выделяющей ферменты (липаза, протеаза, амилаза), она выполняет функцию пищеварительной железы, а за счет панкреатических островков (островков Лангерганса), выделяющих гормоны (инсулин, глюкагон, соматостатин), выполняет функцию эндокринной железы [4, 5]. При этом оба отдела в составе железы тесно контактируют друг с другом, образуя ее паренхиму. Именно поэтому нарушения функций одного из них накладывает отпечаток на работу другого [1, 2]. Для понимания патогенеза этих нарушений и их взаимосвязи необходимы расширенные знания об архитектонике поджелудочной железы в границах биологической нормы. Учитывая вышесказанное, мы поставили цель – установить особенности гистологической организации тканей поджелудочной железы в норме на примере половозрелых годовалых особей быка домашнего.

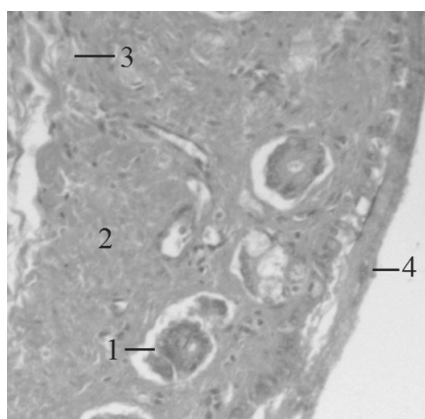


Рис. 1 – Микрофотография гистологического среза тканей поджелудочной железы быка домашнего. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$: 1 – островки Лангерганса (эндокринная часть); 2 – ацинусы (экзокринная часть); 3 – соединительная ткань трабекул; 4 – капсула поджелудочной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования использовали образцы тканей правой доли поджелудочной железы половозрелых годовалых коров черно-пестрой породы, полученные путем биопсии, на базе СПК «Пригородный» Всеволожского района Ленинградской области. Выбор возрастной группы животных обусловлен, тем что на данном периоде постнатального онтогенеза наблюдается окончательный гистогенез тканей поджелудочной железы. Отобранный материал фиксировали в 10,0% растворе нейтрального формалина в течение суток, после чего по общепринятой методике осуществляли его заливку в парафин [1]. Из полученных блоков изготавливали срезы толщиной 5,0-7,0 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону и трихромом по Массону. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводилось на светооптическом микроскопе Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличениях 100, 200 и 400. Полученные морфометрические данные под-

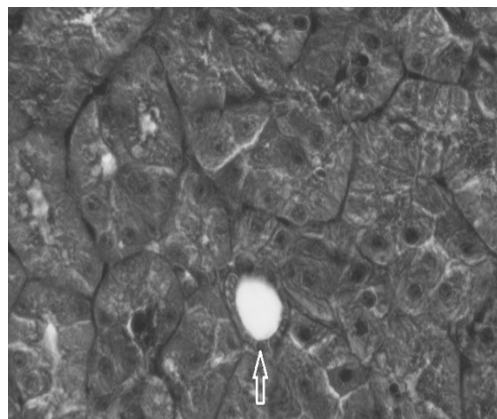


Рис. 2 – Микрофотография гистологического среза тканей поджелудочной железы быка домашнего. Окраска трихромом по Массону. Заметны тонкие соединительнотканые прослойки между структурами органа, окрашенные в синий цвет. Увеличение $\times 400$: \uparrow - внутривольковый выводной проток

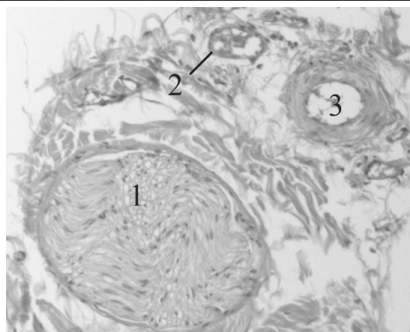


Рис. 3 – Структуры, проходящие в составе стромы поджелудочной железы быка домашнего. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$: 1 – нервный ствол; 2 – вена малого калибра; 3 – артерия малого калибра.

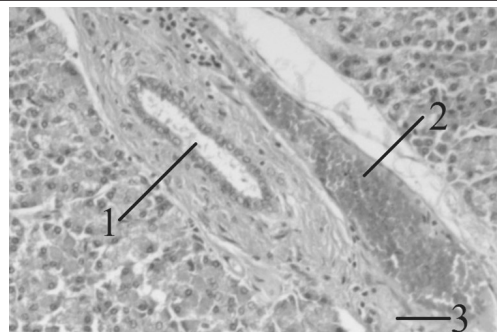


Рис. 4 – Срез междолькового выводного протока поджелудочной железы быка домашнего. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$: 1 – междольковый выводной проток поджелудочной железы; 2 междольковая вена; 3 – соединительная ткань междольковой перегородки.

вергали статистической обработке [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исходя из структурной организации, исследуемый орган у изученных животных относится к сложным альвеолярно-трубчатым железам. Снаружи его покрывает нежная соединительнотканная капсула. В ее составе выявляются артерии и вены мышечного типа, а также нервные стволы различного диаметра. Капсула органа дает начало трабекулам – соединительнотканным тяжам, проходящим между его долек. В составе трабекул выявляются сосудистые элементы, нервные стволы и выводные протоки железы.

В составе железы, в соответствии с выполняемой ею функцией, различимы два отдела – эндокринный и экзокринный. При этом в каждой из долек выявляются оба отдела, однако на эндокринный приходится значительно меньшая часть от объема паренхиматозной ткани (рисунок 1). Гистохимическое окрашивание трихромом по Массону показало, наличие тонких, слабо визуализируемых, соединительнотканых прослоек между экзокринной и эндокринной частями органа, окрашенных в синий цвет (рисунок 2).

Септальные артерии железы были представлены артериями мышечного типа. Их медиа была представлена хорошо

развитым слоем циркулярно расположенных гладких миоцитов базофильные ядра которых имели удлинненно-овальную форму. В составе медиа прослеживалось умеренное количество волокнистых компонентов, которые на препаратах, окрашенных по Ван Гизон приобретали малиновой цвет. Интима артерий имела типичное строение, а адвентиция была представлена умеренно развитым слоем соединительной ткани. Междольковые вены по типу своей организации относились преимущественно к сосудам со слабым развитием мышечных элементов и не имели особенностей в своем строении (рисунок 3).

Протоковая система железы была представлена тубулярными структурами различного диаметра, просвет которых был выстлан одним слоем эпителиоцитов (рисунок 2, 4, 6). Последние содержали в своем составе светлые округлые ядра, богатые эухроматином, а их высота изменялась в зависимости от калибра, выстилаемого ими протока. Так, от вставочных до междольковых протоков она равномерно возрастала и составляла в среднем $9,33 \pm 2,19$ мкм. Диаметр вставочных и внутридольковых протоков поджелудочной железы у изученных животных варьировал в пределах 25,0-50,0 мкм и составил в среднем $32,44 \pm 3,17$ мкм. Диаметр

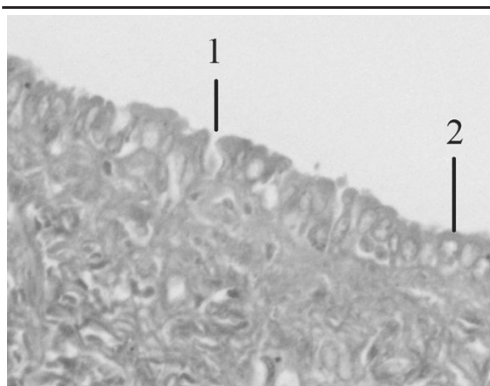


Рис. 5 – Эпителиальная выстилка междолькового протока поджелудочной железы быка домашнего. Окраска Ван Гизон. Увеличение $\times 400$: 1 – бокаловидная клетка; 2 – типичный эпителиоцит

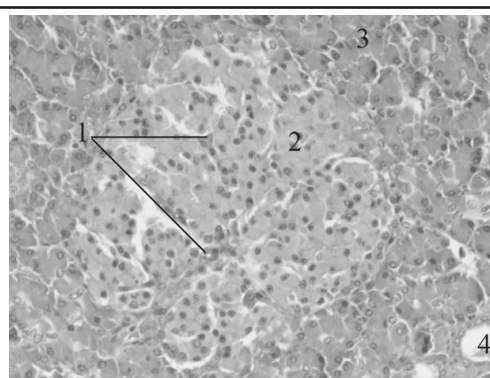


Рис. 6 – Панкреатический островок поджелудочной железы быка домашнего. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$: 1 – эритроциты в просвете капиллярной сети; 2 – инсулоциты; 3 – эндокриноциты; 4 – внутريدольковый выводной проток.

междольковых выводных протоков был значительно больше и составил $92,56 \pm 7,74$ мкм. Система выводных протоков на всех уровнях была окружена хорошо оформленной богатой коллагеновыми волокнами соединительной тканью, толщина которой варьировала в пределах $7,0-30,0$ мкм.

В составе эпителиального пласта, выстилающего междольковые протоки, часто выявлялись одиночно расположенные бокаловидные клетки (рисунок 5).

Концевые отделы экзокринной части железы были представлены панкреатическими ацинусами. Средняя площадь, занимаемая одним ацинусом у изученных животных, составляла $1766,39 \pm 125,36$ мкм². В составе каждого из них можно выделить два отдела – секреторный (сформирован серозными эндокриноцитами) и протоковый (сформирован эпителиальными клетками – центроацинозными эпителиоцитами начальных участков вставочных выводных протоков).

В состав секреторного отдела ацинуса входит от семи до одиннадцати клеток. Их тела достигают среднего диаметра $9,56 \pm 1,34$ мкм. Данные клетки за счет расширенных базальных концов имеют пирамидальную форму. Они содержат

одно хорошо развитое базофильное округлое ядро, а в составе их цитоплазмы выявляются две зоны. Базальная – гомогенная – зона имеет базофильную окраску и располагается в базальной части клетки. Апикальная – зимогенная (верхушечная) – зона содержит гранулы секрета и окрашена оксифильно.

Эндокринная часть железы представлена панкреатическими островками (островками Лангерганса). На полученных гистологических срезах площадь, занимаемая данными образованиями в среднем, составила $9143,51 \pm 2131,42$ мкм². Они были сформированы тяжами тесно связанных между собой эндокринных клеток (инсулоцитов), окруженных обильными капиллярными петлями, формирующими внутри островка разветвленные сети. Последние хорошо визуализировались на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, по расположенным в их просвете эритроцитам (рисунок 6).

Инсулоциты представляли собой клетки небольшого размера, имеющие полигональную форму со слабо очерченной границей. Их цитоплазма была значительно светлее окружающих клеток, формирующих экзокринную часть железы. За

счет этого на препаратах панкреатические островки выявлялись в виде светлых полей. В составе инсулоцитов различимо одно ядро округлой или овальной формы, содержащее равномерно распределенный мелколыбчатый хроматин (рисунок 6).

ВЫВОДЫ

Таким образом, по своей организации поджелудочная железа у изученных животных относится к сложным альвеоларно-трубчатым железам. В ее составе, в соответствии с выполняемой функцией, различимы два отдела – эндокринный и экзокринный, тесно взаимодействующие друг с другом. Экзокринный отдел представлен панкреатическими ацинусами и системой выводных протоков, формирующих панкреатический проток, впадающий в двенадцатиперстную кишку. Эндокринный отдел представлен панкреатическими островками (островками Лангерганса), сформированными тяжами тесно связанных между собой эндокринных клеток (инсулоцитов), окруженных обильными капиллярными петлями, формирующими разветвленные сети. Через последние осуществляется транспорт выделяемых эндокринными клетками гормонов.

FEATURES OF THE HISTOLOGICAL ORGANIZATION OF PANCREATIC TISSUES ON THE EXAMPLE OF A DOMESTIC BULL

Barteneva Yu.Yu. – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0003-4581-2187), **Prusakov A.V.** - Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Internal Animal Diseases. **Sineva A.V.** (ORCID 0000-0001-5582-5155), **Zelenevsky N.V.**, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0001-6679-6978) (St. Petersburg State University of Veterinary Medicine).

ABSTRACT

The aim of the study was to establish the features of the histological organization of pancreatic tissues on the example of a domestic bull. For its implementation, pancre-

atic tissue samples of five sexually mature one-year-old cows of a black-and-white breed obtained by biopsy were used. The selected material was fixed in a 10.0% solution of neutral formalin for a day, after which it was poured into paraffin according to the generally accepted method. Histological sections were made from the obtained blocks, which were stained with hematoxylin and eosin, according to Van Gieson and trichrome according to Mosson. It has been established that the studied organ in the studied animals belongs to complex alveolar-tubular glands. From the outside, it is covered with a delicate connective tissue capsule, giving rise to connective tissue strands (trabeculae) passing between its lobules. Vascular elements, nerve trunks and excretory ducts are identified as part of these structures. The gland itself, in accordance with its function, includes two parts – endocrine and exocrine. The terminal sections of its exocrine part are represented by pancreatic acinuses. As part of the latter, two departments can be distinguished - secretory (formed by serous endocrinocytes) and ductal (formed by epithelial cells (centroacinous) of the initial sections of the insertion excretory ducts). The secretory department of the acinus includes from seven to eleven cells having a pyramidal shape. They contain one well-developed basophilic rounded nucleus, and two zones are revealed in their cytoplasm. The basal – homogeneous – zone has a basophilic color and is located in the basal part of the cell. The apical – zymogenic (apical) zone contains secret granules and is colored oxyphilically. The endocrine part of the gland is represented by pancreatic islets (islets of Langerhans) formed by strands of closely interconnected endocrine cells (isulocytes) surrounded by abundant capillary loops forming branched networks inside the islet. Insulocytes are small cells having a polygonal shape with a poorly defined border. In their composition, one rounded or oval nucleus is revealed, containing evenly distributed small-smiley chromatin.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дроздова, Л.И. Морфогенез поджелудочной железы свиноматок при промыш-

- ленном типе кормления и содержания / Л. И. Дроздова Л.И., А. В. Пузырников // В сборнике: Актуальные вопросы ветеринарии. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней факультета ветеринарной медицины ИВМиБ. Омск, 2020. С. 292-300.
2. Репина, Э.Ф. Морфологические изменения в структуре поджелудочной железы экспериментальных животных при токсическом воздействии и профилактической коррекции / Э. Ф. Репина, Г. В. Тимашева, Н. Ю. Хуснутдинова, С. С. Байгильдин, Д.О. Каримов, Г. Ф. Мухаммадиева, Я. В. Валова, Л. А. Мусина // Медицина труда и экология человека. 2021. № 3 (27). С. 143-152.
3. Смирнова, Е.М. Методика статистического анализа в исследованиях по ветеринарной морфологии / Е. М. Смирнова, Н. В. Зеленевский, А. В. Прусаков // Иппология и ветеринария. 2021. №1 (39). С. 172-177.
4. Стекольников, А.А. Анатомия лошади: учебник для студентов вузов, обучающихся по специальности 36.05.01 Ветеринария (квалификация "ветеринарный врач"); по направлениям подготовки 36.03.01 ВСЭ (квалификация (степень) "бакалавр"); по направлению подготовки 36.03.02 Зоотехния (квалификация (степень) "бакалавр") / А. А. Стекольников, Ф. И. Василевич, Н. В. Зеленевский, И. Б. Дугучиев, М. В. Щипакин, А. В. Прусаков; под общ. ред. Н. В. Зеленевского. – Санкт-Петербург: Проспект Науки, 2018. – 592 с. – ISBN 978-5-906109-78-1.
5. 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.



УДК 619:616.9:636.4

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.162

ВОЗБУДИТЕЛИ МАСТИТА У КОРОВ И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ СРЕДСТВАМ

Балбуцкая А.А. – к.б.н., заведующая лабораторией, Скворцов В.Н. – д.в.н., руководитель филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»

Ключевые слова: мастит коров, возбудители, частота выделения, антибиотикорезистентность, полирезистентность. **Key words:** bovine mastitis, pathogens, frequency of isolation, antibiotic resistance, multidrug resistance.



РЕФЕРАТ

Мастит является одним из наиболее распространенных заболеваний в молочной промышленности. Антибиотики считаются препаратами первого выбора при лечении заболевания. Однако проблема остаточных количеств антибиотиков и резистентности к ним приводит к многочисленным ограничениям при назначении антимикробных средств в молочной промышленности во всем мире.

Работа посвящена изучению и анализу чувствительности возбудителей острого мастита у коров к различным антибактериальным средствам. Бактериологические исследования проводили по общепринятой методике. Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузным методом.

Проанализирована динамика высеваемости основных возбудителей острого мастита коров и их чувствительности к антибиотикам за 5-летний период (2017-2021 гг.) в центральном регионе России. Установлено, что в последние годы грамположительные инфекции стали преобладающими, при этом коагулазоотрицательные стафилококки всё более вытесняют *S. aureus*. Доминирующими возбудителями заболевания являлись представители рода *Enterococcus*. Анализ чувствительности к антибиотикам позволил установить высокий уровень полирезистентности среди всех выделенных штаммов патогенов (97 %).

Для снижения уровня резистентности и распространения мультирезистентных возбудителей инфекционных заболеваний необходимо совершенствовать методы лабораторной диагностики и осуществлять жесткий контроль за использованием антибактериальных средств.

ВВЕДЕНИЕ

Мастит является серьезной проблемой для молочного производства во всем мире. Патология вымени – одна из главных причин потери производства

молока, резкого снижения его количества и ухудшения санитарного качества молока, что приводит к серьезному экономическому ущербу для отрасли.

Современный темп развития животно-

водства всегда сопровождается рядом проблем. В том числе, излишняя концентрация особей в крупных производственных комплексах ведет к росту заболеваемости животных, а также вероятности заражения человека болезнями животных.

Главным этиологическим агентом в развитии мастита у коров большинство ученых считают условно-патогенную микрофлору, включая грамотрицательные и грамположительные бактерии, некоторые из них встречаются в качестве комменсалов или патогенов человека. Мастит способны вызывать более 100 видов микроорганизмов, а в большинстве случаев различные микробные ассоциации. Одним из самых контагиозных возбудителей мастита у коров считают золотистый стафилококк. По данным ряда исследователей в Европе, Северной и Южной Америке в конце 90-х - начале 2000-х годов наиболее распространенным патогеном являлся *S. aureus*. Частота его выделения составляла 20-30 %. В последнее время неуклонно растет этиологическая значимость коагулазоотрицательных стафилококков (КОС), среди которых основными возбудителями маститов у коров признаны *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. xylosus* и некоторые другие виды [1, 7]. Помимо стафилококков мастит коров способны вызывать представители семейства *Enterobacteriaceae*, а также родов *Streptococcus spp.*, *Lactococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Prototheca spp.*, *Mycoplasma spp.* и других [5, 6].

Развитие же инфекционного процесса зависит от множества факторов внешней среды, а также состояния организма животного. Нерегулярное и несвоевременное бактериологическое исследование молока от больных коров и нерациональное и бессистемное назначение им антимикробных средств, приводит к появлению устойчивых к антибиотикам штаммов микроорганизмов, увеличению уровня резистентности патогенов, широкому и быстрому распространению эпидемически успешных бактериальных линий. Возможны случаи горизонтального переноса генов антибиотикорезистентности как

между родственными, так и неродственными бактериями, способными в том числе вызывать зоонозные инфекции [4, 8]. Особого внимания заслуживает мониторинг устойчивости бактериальных патогенов к препаратам, используемым в медицине и ветеринарии.

Целью исследования явилось изучение видового состава возбудителей, которые выделяются при клинических маститах у коров, и определение их чувствительности к антибактериальным средствам различных фармакологических групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2021 году для исследования были отобраны пробы молока от 25 коров, больных клинической формой мастита, принадлежащих 4 хозяйствам в центральном регионе РФ.

Забор материала и транспортировку осуществляли с помощью транспортной среды фирмы «HiMedia», Индия. Выделение микроорганизмов производили путем посева проб патологического материала на селективные питательные среды: желточно-солевой, стрептококковый, желчно-эскулиновый агары, агар Эндо, висмут-сульфитный агар («HiMedia», Индия). Родовую принадлежность изолированных микроорганизмов определяли общепринятыми бактериологическими методами. Стафилококки тестировали на наличие способности к плазмокоагуляции и лецитиназной активности. Гемолитические свойства культур изучали на МПА с добавлением 5 % дефибринированной крови барана. Определение видового состава микрофлоры молока больных маститом коров было выполнено с помощью коммерческих биохимических тест-систем «Стафитест-24», «Стрептотест-16», «Энтеротест-24», «Энкоккус тест», «Нефермтест-24» («Erba Lachema», Чехия). Чувствительность к 32 антибиотикам 12 фармакологических групп (пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, нитрофураны, тетрациклины, фторхинолоны, линкозамиды, макролиды, гликопептиды, оксазолидино-

Таблица 1

Распределение бактериальных изолятов в исследованных образцах молока, отобранных от больных маститом коров

Микроорганизмы	Количество больных животных	%
Энтерококки	7	28
Стафилококки	4	16
Арканобактерии	1	4
Стафилококки+энтерококки	4	16
Энтерококки+ <i>E. coli</i>	1	4
Стафилококки+ <i>E. coli</i>	1	4
Энтерококки+стафилококки+ <i>E. coli</i>	2	8
Микрофлора не выделена	5	20
Всего	25	100

ны, амфениколы, рифампицин) тестировали диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтон, в соответствии с критериями европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) [3]. Штаммы микроорганизмов считали полирезистентными при выявлении их устойчивости к трём или более антибактериальным средствам различных фармакологических групп.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам бактериологических исследований в 5 (20%) из 25 посевов проб молока, рост микрофлоры отсутствовал. Грамположительные микроорганизмы идентифицировали во всех положительных посевах, в большинстве случаев в монокультуре (60 %). Грамотрицательные бактерии высевались только в составе смешанной флоры. Ассоциации бактериальных возбудителей были выявлены в 8 (32 %) пробах молока от маститных коров (таблица 1).

Всего из 25 образцов патматериала были выделены 30 микроорганизмов 11 видов (таблица 2). Анализ состава микрофлоры секрета вымени коров, страдающих острым маститом, показал, что доминирующими возбудителями заболевания являлись представители рода *Enterococcus*, удельный вес которых составил 46,7 % (n=14) от общего количества изолированных бактерий. Рост энтерококков

наблюдали в виде монокультуры и в ассоциациях со стафилококками и/или кишечной палочкой. Кроме того, в составе микрофлоры были обнаружены представители рода *Staphylococcus spp.* – 11 (36,7 %), *E. coli* – 4 (13,3 %) и единичный изолят *Arcanobacterium spp.* Среди стафилококков преобладали коагулазоотрицательные виды (30 %).

Для всех выделенных изолятов определили чувствительность к 32 антибактериальным средствам разных классов. Множественную лекарственную устойчивость регистрировали у всех тестированных изолятов, за исключением 1 изолята *S. aureus* (97 %). Большинство изолятов рода *Enterococcus* были устойчивы к оксациллину (100 %), линкозамидам (100 %), фуразолидону (71,4 %), ампициллину (67 %), 78,6 % обладали промежуточной устойчивостью к тилозину. В отношении энтерококков наибольшую активность проявили амоксициллин/сульбактам, пемфлоксацин – 100 %, рифампицин – 74,1 %, хлорамфеникол – 64,3 %, пенициллин, фузидин, тетрациклины, ципрофлоксацин, офлоксацин – 57 %. Менее активными оказались амоксициллин – 50 %, энрофлоксацин – 35,7 %, эритромицин и тилозин – 21,4 %. Все тестированные изоляты обладали множественной устойчивостью к антибактериальным средствам.

По данным исследования, среди выделенных изолятов стафилококка нечув-

Таблица 2

Видовая структура изолятов, выделенных из молока больных острым маститом коров

Вид микроорганизма	Количество (n)	Частота выделения (%)
Энтерококки:	14	46,7
<i>Enterococcus faecium</i>	9	30
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	13,4
<i>Enterococcus mundtii</i>	1	3,3
Стафилококки:	11	36,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	6,7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	10
<i>Staphylococcus xylosum</i>	2	6,7
<i>Staphylococcus warneri</i>	2	6,7
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1	3,3
<i>Staphylococcus piscifermentans</i>	1	3,3
<i>Arcanobacterium spp.</i>	1	3,3
<i>Escherichia coli</i>	4	13,3
Всего:	30	100

ствительными к цефтазидиму оказались 100 % штаммов, к ампициллину – 91 %, пенициллину – 73 %, к цефалоспорином 1-2 поколений и цефотаксиму – 54,5 %, к стрептомицину – 36,4 %. Наибольшую чувствительность представители рода *Staphylococcus* проявили к амоксициллину, амоксициллин/сульбактаму, цефепиму, тобрамицину, гентимицину, канамицину, хлорамфениколу – 100 % изолятов, к тетрациклину, неомицину, нитрофуранам, фторхинолонам (кроме норфлоксацина), рифампицину – 82 %, к эритромицину, тилозину и линкомицину – 45,5 %. Наибольшая часть изученных штаммов (91 %) относилась к категории полирезистентных. У 45,4 % штаммов выявлена устойчивость к оксациллину. Среди изученных штаммов *E. coli* не было выявлено изолятов, чувствительных по отношению к препаратам группы пенициллинов, нитрофуранов и макролидов. Не обнаружены чувствительные изоляты к цефокситину и стрептомицину, все изоляты были чувствительными к цефепиму. Уровень чувствительности к тобрамицину, канамицину, энрофлоксацину, хлорамфениколу составил 75 %, к тетрацик-

линам, цефазолину, цефтазидиму, неомицину, циприфлоксацину, пefлоксацину – 50 %, к цефотаксиму, офлоксацину и норфлоксацину – 25 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнивая результаты подобного микробиологического исследования, проведенного нами в 2017 году, с полученными данными в 2021 году, можно констатировать, что за период с 2017 по 2021 гг. в общей структуре возбудителей доля грамположительных микроорганизмов увеличилась с 76,9 до 86,7 %, грамотрицательных уменьшилась с 23,1 до 13,3 %. Значительно уменьшилась частота выделения *S. aureus* с 28 до 6,7 % и увеличилась доля *Enterococcus spp.* с 12,8 до 46,7 %. В отличие от исследования 2017 г., в настоящем исследовании не были выделены представители *Streptococcus spp.* [2]

На рисунке 1 представлена чувствительность к антибиотикам тестируемых изолятов стафилококка, выделенных из молока больных острым маститом коров. В исследовании 2021 г. выросла доля метициллину-устойчивых изолятов по сравнению с 2017 г. – 45,4 % и 33,3 % соответственно. Причем метициллину-устойчивые

Таблица 3
Чувствительность микроорганизмов, выделенных из проб молока от больных маститом коров, к препаратам разных групп

Группы анти-биотиков	Препараты	<i>Enterococcus faecium</i> (n=9)	<i>Enterococcus faecalis</i> (n=4)	<i>Enterococcus mundii</i> (n=1)	КОС (n=9)	<i>S. aureus</i> (n=2)	<i>E. coli</i> (n=4)	<i>Arctobacterium</i> spp. (n=1)
Пенициллины	Ампициллин	3	2	1	1	0	-	1
	Бензилпенициллин	4	3	1	3	1	-	1
	Оксациллин	0	0	0	6	-	-	0
	Амоксициллин	4	2	1	9	2	0	1
	Амоксициллин/ сульбактам	9	4	1	9	2	0	1
Цефалоспорины	Цефазолин	4	1	0	6	2	2	1
	Цефокситин	1	1	0	6	2	0	1
	Цефтазидим	2	0	0	0	0	2	1
	Цефотаксим	2	0	0	6	2	1	1
	Цефепим	3	2	0	6	2	4	1
Аминоглико-зиды	Тобрамицин	-	-	-	9	2	3	1
	Канамицин	-	-	-	9	2	3	1
	Гентамицин	-	-	-	9	2	4	1
	Стрептомицин	-	-	-	7	2	0	0
	Неомицин	-	-	-	9	2	2	1
Нитрофураны	Фуразолидон	4	0	0	9	2	0	0
	Фузидин	5	2	1	9	2	-	1
Тетра-циклины	Тетрациклин	6	1	1	9	2	2	1
	Доксициклин	6	1	1	9	2	2	1
Фторхино-лоны	Ципрофлоксацин	5	2	1	9	2	2	1
	Норфлоксацин	2	0	0	4	2	0	0
	Офлоксацин	4	3	1	9	2	1	1
	Пефлоксацин	9	4	1	9	2	2	1
	Энрофлоксацин	4	1	0	9	2	3	1
Линко-замиды	Линкомицин	0	0	0	5	0	-	0
	Клиндамицин	0	0	0	5	0	-	0
Другие	Рифампицин	9	3	0	9	2	-	1
	Хлорамфеникол	5	4	1	9	2	4	1
	Эритромицин	1	2	0	4	1	0	0
	Тилозин	2	0	1	4	2	0	1
	Ванкомицин	9	4	1	9	2	-	1

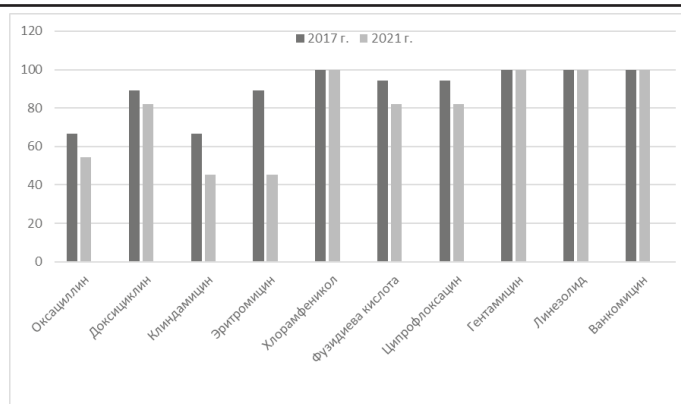


Рис. 1. Чувствительность к антибактериальным средствам изолятов стафилококка, выделенных из молока больных маститом коров в 2017 и 2021 гг. (% чувствительных изолятов).

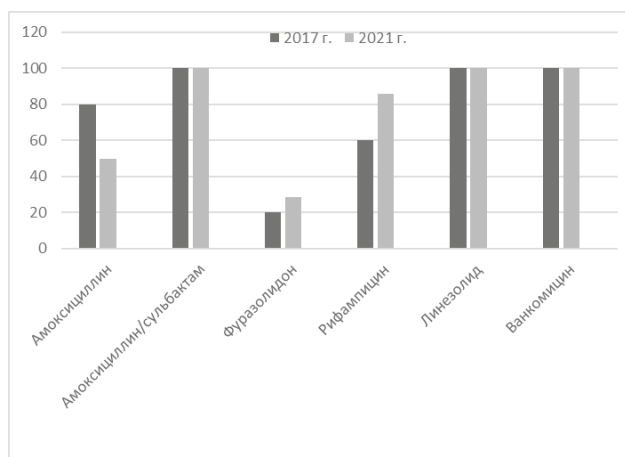


Рис. 2. Чувствительность к антибактериальным средствам изолятов энтерококка, выделенных из молока больных маститом коров в 2017 и 2021 гг. (% чувствительных изолятов).

изоляты в 2021 г. были идентифицированы только среди коагулазоотрицательных видов стафилококка (КОС). Такие штаммы мы также считали устойчивыми ко всем β -лактамным антибиотикам. В 2017 г. частота выделения полирезистентных штаммов стафилококка составляла 55,6 %, а в 2021 г. – 97 %. Все штаммы стафилококка были чувствительны к ванкомицину и линезолиду.

На рисунке 2 представлена чувствительность *Enterococcus spp.* Большинство штаммов энтерококка в 2017 г. и 100% изолятов в 2021 г. были полирезистент-

ными. Все исследованные штаммы в 2017 и 2021 гг. сохранили чувствительность к амоксициллин/сульбактаму, линезолиду и ванкомицину. Снижился уровень чувствительности энтерококков к амоксициллину в 2021 г. с 80 до 50 % по сравнению с 2017 г. По результатам исследований 2017 и 2021 гг. все грамотрицательные возбудители мастита коров были полирезистентными. Штаммы, выделенные в 2017 г., обладали высоким уровнем чувствительности к амоксициллин/сульбактаму, фторхинолонам, цефалоспорином 3-4 поколений и аминогликозидам

(90-100 % чувствительных изолятов). Среди грамотрицательных патогенов, изолированных в 2021 г., не было чувствительных к амоксициллин/сульбактаму, только 50-75 % штаммов сохранили чувствительность к фторхинолонам и 50-75 % к аминогликозидам. 100% чувствительность была установлена только к цефепиму и гентамицину.

ВЫВОДЫ

Полученные нами результаты позволяют сделать заключение об изменении структуры возбудителей острого мастита у коров в центральном регионе России за последние 5 лет (2017-2021 гг.). Грамположительные патогены по-прежнему преобладали, но высевались в большем количестве по сравнению с 2017 г. Увеличился уровень общей распространенности полирезистентности с 92,3 до 97 % среди тестированных штаммов в 2017 и 2021 гг. соответственно. Таким образом, активное использование антибактериальных средств, порой избыточно широкого спектра действия, в животноводческих хозяйствах должно подвергаться жесткому контролю, с целью снижения числа случаев гнойно-воспалительных заболеваний, вызванных полирезистентными микроорганизмами. Кроме того, необходимо совершенствование методов лабораторной диагностики, для своевременного выделения патогенов и определения тактики антимикробной терапии.

PATHOGENS OF BOVINE MASTITIS AND THEIR SENSITIVITY TO ANTIMICROBIALS. A.A. Balbutskaya, V.N. Skvortsov. Federal Research Center All-Russian scientific research institute of experimental veterinary medicine named after K.I. Skryabina and Ya.R. Kovalenko, Russian Academy of Sciences
ABSTRACT

Mastitis is the most important disease in the dairy industry. Antibiotics are considered to be the first choice in the treatment of the disease. However, the problem of antibiotic residue and antimicrobial resistance, leads to many restrictions on antibiotic therapy in the dairy sector worldwide.

The work is devoted to the study and analysis of the sensitivity of pathogens of

acute mastitis in cows to different antibacterial drugs. Bacteriological studies were carried out according to the generally accepted methods. Antibiotic sensitivity was determined by the disk diffusion method.

The dynamics of isolation of the main pathogens of acute mastitis in cows and their antibiotic sensitivity within a 5-year period (2017-2021) in the central region of Russia was analyzed. It has been established that in recent years gram-positive infections became predominant, while coagulase-negative staphylococci are increasingly replacing *S. aureus*. Representatives of the genus *Enterococcus* were predominant causative agents of the disease. High-level multidrug resistance of all isolated strains of pathogens was determined (97%).

The improvement of laboratory diagnosis and strict control over the use of antimicrobials need to reduce the level of resistance and the spread of multi-resistant pathogens of pyo-inflammatory diseases.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Балбуцкая А.А., Дмитренко О.А., Войтенко А.В., Скворцов В.Н. Видовое разнообразие представителей рода *Staphylococcus*, выделенных от домашних и сельскохозяйственных животных с различными гнойно-воспалительными заболеваниями. *Международный вестник ветеринарии*. 2015; 2: 56–62.
2. Балбуцкая А.А., Скворцов В.Н., Белимова С.С. Чувствительность к антибактериальным средствам возбудителей клинического мастита коров. *Ветеринария*. 2018; 9: 39-44.
3. Методические указания 4.2.1890–04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. Москва: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004: 91.
4. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(3): 268-81.
5. Ronaldo M.B., Claiton I.S., Bianca S. de C. et al. Pathological and microbiological

characterization of mastitis in dairy cows. Trop. Anim. Health. Prod. 2019; 51(7): 2057-2066.

6. Ruegg P.L. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. J. Dairy Sci. 2017; 100(12): 10381-10397.

7. Wagener K., Grunert T., Prunner I. et al. Dynamics of uterine infections with *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* and

Trueperella pyogenes in post-partum dairy cows and their association with clinical endometritis. Vet. J. 2014; 202: 527-532.

8. Zadoks R.N., Middleton J.R., McDougall S. et al. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. 2011; 16(4): 357-72.

УДК 619:618.19-002:637.115

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.169

КОМПЛЕКСНАЯ СИСТЕМА ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ МАСТИТА У ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ

Гамаюнов В.М.- к. биол.н., доц., вед. науч.сотру., Онуфриев В.А.- к. в.н., доц., ст.науч. сотр., Целуева Н.И.- к. вет. н., вед. науч.сотр.
ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур»

Ключевые слова: мастит коров. **Key words:** bovine mastitis



РЕФЕРАТ

Заболевание коров маститами является серьезной проблемой в интенсивном использовании животных и финансовом благополучии молочных хозяйств [1,5].

Разработка программ охраны здоровья животных, а также внедрение комплексного подхода к профилактике мастита с использованием современной фармакотерапии на сегодняшний день являются главной задачей ветеринарной медицины [10,11]. Разные группы микроорганизмов служат причиной мастита, в последнее время можно отметить частые случаи участия клебсиелл – грамотрицательных полиморфных микроорганизмов [7,8].

Анализ статистики показывает, что маститы в 40% случаев становятся рецидивирующими. Повторное возникновение маститов происходит в результате ослабления организма и иммунной системы, а также развития бактериорезистентности [9].

В нашей научной работе (2015-2021) в хозяйствах использовались различные методы профилактических и лечебных мероприятий. Основными являлись: подготовка вымени к доению, обработка доильного и молочного оборудования дезинфицирующими средствами, соблюдение режимов машинного доения. Ежегодно применялись новейшие лекарственные средства для лечения маститов и повышения общей резистентности организма и иммунной системы [2,3].

Целью настоящей статьи является создание единого подхода в профилактике и лечению маститов, тем самым преследуя сохранение здоровья дойных коров, получения экологически чистой продукции и сокращение экономического ущерба хозяйств.

В комплексном применении современных лекарственных средств для повышения общей резистентности и иммунной системы организма, а так же обработка доильного и молочного оборудования обеспечили снижение заболеваемости коров маститом в 2раза. Применение новых противомаститных препаратов показало высокую эффективность, которая достигала 86,7-96,7% каждого, а при использовании одновременно двух препаратов в - 98,2% [4].

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания лактирующих коров маститами возникают в любое время года и разные периоды физиологического состояния: чаще после отела и первые месяцы лактации.

Для лактирующей коровы важны все окружающие факторы жизнеобеспечения: оптимального воздействия корма, питания, микроклимата, санитарной среды и благоприятных технологий кормления, содержания, ухода и доения. Здоровье, уровень продуктивности и качество молока являются эталоном в экономической оценке работы фермы комплекса и хозяйства [1].

Высокая молочная продуктивность коровы, ежегодные отелы, неблагоприятные окружающие факторы: несоблюдение технологии доения, антисанитария, переохлаждение, погрешности в кормлении приводят к снижению общей резистентности организма и молочной железы. Проникающие в вымя микроорганизмы вызывают мастит [16].

Статистика свидетельствует о постоянно высоком уровне распространении мастита – от 40 до 60 % коров переболевают субклиническим и от 10 до 25% клиническими маститами, что характерно для хозяйств Смоленской области [8].

В наших исследованиях (2015-2021) на молочном комплексе и в племрепродукторе применялись разные подходы в определении действенных профилактических и лечебных мероприятий: санобработка доильного оборудования и подготовка вымени к доению, соблюдение режимов машинного доения, гигиены кормления и ухода за животными, применение современных фармакологических средств, для повышения общей резистентности организма и иммунной системы. Для терапии выявленных маститов ежегодно использовали новые препараты для профилактики появления устойчивых штаммов микроорганизмов и сокращения сроков лечения. Но, применить все эти подходы в едином комплексе в одном предприятии нам не удавалось [5,6].

Целью настоящей статьи является создание единого подхода в профилактике

и лечению маститов, тем самым преследуя сохранение здоровья дойных коров, получения экологически чистой продукции и сокращение экономического ущерба хозяйств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научные исследования проводили в «племрепродукторе ЗАО им. Мичурина» (600 голов) и на молочном комплексе «Русь» (1100 голов) в Смоленском районе, Смоленской области (2015-2021) на лактирующих коровах и в лаборатории Смоленского научно-исследовательского института сельского хозяйства. Исследования выполнялись по общепринятым методическим положениям при мастите коров диагностика на МКП-2 с маститом, постановка пробы отстаивания, определение состава микрофлоры и ее чувствительности к применяемым препаратам, с оценкой условий содержания, кормления, доения и ухода. Для профилактики мастита, повышения общей резистентности и иммунной системы применялись фармпрепараты; иммунофан, седимин, АСД-2, биостимульгин согласно наставлений по применению, курсом в 10-12 дней и повторно через месяц. Общий цикл применения препаратов составлял 2-3 курса.

Для обработки доильного оборудования применяли средства 1% рабочей концентрации щелочного и кислотного состава с моющими и дезинфицирующими свойствами. Технология обработки заложена в компьютерную программу на стационарной летней доильной площадке и на комплексе, оборудованных молокопроводом.

Ежегодно для лечения серозно-катарального мастита применяли новый противомаститный препарат в альтернативу появления устойчивых штаммов микроорганизмов возбудителей мастита и сокращения сроков лечения: прималакт, мультиджект, колимаст, мастивин, мастисан, триалакт, мастомицин.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На молочном комплексе «Русь» качественная санобработка доильного оборудо-

Таблица №1
Терапевтическая эффективность противомаститных препаратов,
использованных за 2015-2021 г.г.

Годы	Лекарственные препараты	%
2014	Ваккамаст	84,5
2015	Прималакт	86,7
2016	Прималакт (утро)	92,0
	Мультиджект (вечер)	
2017	Колимаст (зима)	97,4
	Колимаст + Мультиджект (лето)	98,2
2018	Мастивин	92,5
2019	Мастинон	95,0
2020	Триолакт	96,7
2021	Мастомицин	82,3

дования с определением смывов с него на бактериальную обсемененность и проб молока по действующему регламенту соответствовали хорошей оценке, что позволило хозяйству от наблюдаемого стада коров (n -175) реализовать молоко высшим сортом.

Работа по профилактике мастита проводилась в течение пастбищного периода продолжительностью 115 дней, результат оказался положительный: в опытном стаде заболеваемость коров субклиническим маститом составила от 5 до 8%, с клиническим течением - 0,5- 1,3%, а в контрольном стаде (n -156), соответственно, 12,1 – 18,6% и 6,3-7,9%.

Применяемые фармакологические средства с целью профилактики мастита и для повышения иммунитета у лактирующих коров, а также устойчивости организма, дали положительный результат – за 115 дней заболели субклиническим маститом только две коровы из 13 (15,2%), случаев клинической патологии молочной железы не наблюдалось.

Применение новых противомаститных препаратов с терапевтической целью показали высокую эффективность, в результате сократились сроки лечения. Больные серозно-катаральным маститом, выздоравливали за три введения каждого препарата (табл. №1).

Новые антибактериальные препараты оказывали губительное действие за короткий срок на различные микроорганизмы

возбудителей мастита. Тем самым предупреждали появление устойчивых штаммов к препаратам.

Терапевтическая эффективность примененных препаратов проявлялась в пределах 82,3-98,2%, с более высокой эффективностью отмечаются препараты колимаст и мультиджект – 98,2% (2017), не менее эффективными оказались мастинон – 95,0% (2019) и триолакт – 96,07% (2020) за три дня лечения.

ВЫВОДЫ

1. Регулярная и качественная обработка доильного оборудования моющедезинфицирующими средствами в комплексе с гигиеной вымени позволяют в 2раза снизить заболеваемость коров маститом.

2. Применяемые фармакологические средства с целью профилактики мастита показали высокую эффективность в повышении иммунитета и устойчивости организма лактирующих коров к заболеванию маститом.

3. Ежегодное применение нового противомаститного препарата исключает бактериальную резистентность к штаммам микроорганизмов, устойчивых к терапевтическому средству и сокращает сроки лечения мастита.

INTEGRATED SYSTEM FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF MASTITIS IN LACTATING COWS. Gama.mov V.M., Onufrieva V.A., Tselueva N.I.

ABSTRACT

The disease of cows with mastitis is a serious problem in the intensive use of animals and the financial well-being of dairy farms [1,5]. The development of animal health programs, as well as the introduction of an integrated approach to the prevention of mastitis using modern pharmacotherapy, is the main task of veterinary medicine today [10,11]. Different groups of microorganisms cause mastitis; recently, frequent cases of participation of *Klebsiella*, gram-negative polymorphic microorganisms, can be noted [7,8]. Analysis of statistics shows that mastitis becomes recurrent in 40% of cases. The repeated occurrence of mastitis occurs as a result of the weakening of the body and the immune system, as well as the development of bacterio-resistance [9]. In our scientific work (2015-2021), various methods of preventive and therapeutic measures were used on farms. The main ones were: preparation of the udder for milking, treatment of milking and dairy equipment with disinfectants, compliance with machine milking regimes. Every year, the latest drugs were used to treat mastitis and increase the overall resistance of the body and the immune system [2,3]. The purpose of this article is to create a unified approach in the prevention and treatment of mastitis, thereby pursuing the preservation of the health of dairy cows, obtaining environmentally friendly products and reducing the economic damage to farms. In the complex use of modern medicines to increase the overall resistance and immune system of the body, as well as the processing of milking and dairy equipment, the incidence of mastitis in cows was reduced by 2 times. The use of new anti-mastitis drugs showed high efficiency, which reached 86.7-96.7% of each, and when two drugs were used simultaneously, it was 98.2% [4].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гамаюнов В.М., Камошенков А.Р., Климов Н.Т. [и др.] Методические рекомендации по профилактике и терапии мастита у коров при инновационных

технологиях производства молока на фермах и комплексах Смоленской области.- Смоленск. 2009,- С. 35-37

2. Гамаюнов В.М. Эффективность Ваккомаста при мастите у лактирующих коров / В.М. Гамаюнов, А.Х.Амиров / Ветеринария. 2016.-№5 С.32-34.

3. Гамаюнов В.М. Эффективность Прима-лакта при мастите у лактирующих коров/ В.М.Гамаюнов, Д.Н.Кольцов, В.М.Новиков, / Международный научно-исследовательский журнал. -2016.-№7 (4-9) июль, Ч.3.-С.28-30.

4. Гамаюнов В.М., Целуева Н.И. Колимаст и мультиджект в лечении мастита у лактирующих коров /Международный вестник ветеринарии. 2018. № 2. С. 41-45.

5. Гамаюнов В.М. эффективность мастинона у лактирующих коров / В.М.Гамаюнов, В.А. Онуфриев, Н.И. Целуева/ Международный вестник ветеринарии 2020. №4. С 52-55.

6. Гамаюнов В.М. Применение при мастите триолакта у лактирующих коров /В.М. Гамаюнов, В.А. Онуфриев, Н.И. Целуева/ Международный вестник ветеринарии 2021. №2. С 47-50.

7. Никанова Д.А. Новый аспект изучения Биологически Активных Веществ и их комплексное влияние на метаболическое здоровье, продуктивность и качество молока коров. Автореферат канд. дис. к.б.н. Дубровицы. 2021.

8. Париков В.А., Климов Н.Т., Романенко А.Н., Новиков О.Г /Мастит у коров (профилактика и терапия)/. Ветеринария.- 2010.-№11.-С.35-37.

9. Пудовкин Д.Н. /Новое в генезе мастита коров/. Молочное и мясное скотоводство. 2020, №3, С.43-45.

10. Смирнов А.М. Достижения и актуальные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологии /А.М. Смирнов Ж. Ветеринария 2010.С3-6.

11. Шабунин С.В. Актуальные проблемы терапии и профилактики мастита у коров./Шабунин С.В. и др. Ж. Ветеринария 2011. № 12. С.3-6



ХИРУРГИЯ

УДК 636.4:612.616.1:636.4:612.015.4:636.4:612.015.1:636.4:612.015.32
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.173

ВЛИЯНИЕ КАСТРАЦИИ ХРЯКОВ НА ФОНЕ ИММУНОКОРРЕКЦИИ НА ПИГМЕНТНЫЙ, ФЕРМЕНТНЫЙ И ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН

Решетняк В.В. – канд. ветеринар. наук, доцент ФГБОУ ВО «Костромская ГСХА», Стекольников А.А. – д-р ветеринар. наук, профессор, академик РАН ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Бурдейный В.В. – д-р ветеринар. наук, профессор, Малахова Л.В. – канд. ветеринар. наук, доцент ФГБОУ ВО «Костромская ГСХА»

Ключевые слова: свиньи, кастрация, иммунокоррекция, тимоген, биохимические показатели. **Key words:** pigs, castration, immunocorrection, timogen, biochemical parameters.



РЕФЕРАТ

В статье представлены данные о влиянии кастрации на изменение показателей, отражающих пигментный, ферментный и липидный обмены. Опыты проведены на 14 хряках 5-мес. возраста, распределенных на две группы ($n = 7$ в каждой) – контрольную и подопытную ($n = 7$). Медикаментозное сопровождение перед кастрацией открытым способом заключалось во внутримышечной инъекции кетоджекта, а в послеоперационный период – в повторном применении вышеуказанного препарата, а также кобактана и хипратопика спрея. Хрякам подопытной группы дополнительно инъецировали тимоген, являющийся синтетическим аналогом одного из гормонов тимуса.

Кровь отбирали до, на 14- и 30-е сутки после оперативного вмешательства, сыворотку получали общепринятым способом. Определяли содержание аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, общего и прямого билирубинов, холестерина, триглицерида, лактатдегидрогеназы, альфа-амилазы, гамма-глутамилтрансферазы и расчетным методом коэффициент де Ритиса.

Установлено, что кастрация как в контрольной, так и подопытной группах (на фоне иммунокоррекции) вызвала существенные изменения в биохимическом статусе животных обеих групп, в большинстве случаев имевших одностороннюю направленность. Так, на 14-е сутки девять показателей из 10 характеризовались отрицательной динамикой, а на 30-е – положительной, в пяти случаях из которых с превышением уровня дооперационного периода. Только в отношении триглицеридов отмечали тенденцию к повышению на всех этапах исследований. Коэффициент де Ритиса носил разноплановый характер.

Наиболее выраженные изменения регистрировали в катаболическую фазу в ферментной системе показателей – аминотрансфераз (особенно АлАТ, гамма-глутамилтрансферазы, лактатдегидрогеназы, альфа-амилазы). Для анаболической стадии характерна нормализация показателей АсАТ, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, лактатдегидрогеназы; ниже исходного, но превышающие нормативные значения – АлАТ; верхнюю границу референсных интервалов – общего билирубина, холестерина, триглицеридов.

Применение тимогена в значительной степени снижало негативное влияние оперативного вмешательства, особенно в катаболическую фазу и способствовало более быстрой нормализации показателей, отражающих ферментный обмен. Их динамика в подопытной группе характеризовалась меньшей амплитудой и интервалами в диапазоне min – max по сравнению с контрольной. Существенных различий в динамике показателей липидного и пигментного обменов между группами не регистрировали на фоне в большинстве случаев референсных значений в катаболическую фазу при повышении уровня общего билирубина, холестерина и триглицеридов в анаболическую.

ВВЕДЕНИЕ

Кастрация молодняка свиней и особенно хряков, не прошедших племенного отбора, относится к наиболее частым хирургическим вмешательствам в условиях промышленного свиноводства. Положительной ее стороной является возможность управления гормональным статусом животных и повышения качества получаемой продукции за счет устранения (минимизации) неприятного запаха – «запах мяса хряка», а основным недостатком – наличие послекастрационных осложнений, число которых в условиях промышленной технологии может достигать 63,98% [1].

На современном этапе развития хирургии все большее внимание исследователей стали привлекать иммуотропные препараты, в значительной мере повышающие эффективность комплексного лечения при травмах различного генеза, в том числе и при оперативном вмешательстве. В большей степени этот вопрос отражен в публикациях медицинских исследований, в то время как в ветеринарии сведения ограничены отдельными сообщениями [7, 10]. С положительным результатом данный прием был апробирован нами с использованием тимогена и рибавина на моделях кожно-мышечных ран у мышей, крупного рогатого скота, при переломах у крыс, а также кастрации поросят доотъемного периода [8].

Известно, что любая травма, в том числе и оперативное вмешательство, со-

провождается нарушениями метаболического процесса у животных. Наиболее часто об этом судят по изменению основных биохимических показателей крови. Это позволяет изучить не только динамику того или иного процесса, но и определить качество профилактических и лечебных мероприятий, наметить рациональные и целенаправленные пути их коррекции.

В связи с этим перед нами стояла цель изучить динамику показателей ферментного, пигментного и липидного обменов у хряков после кастрации на фоне иммунокоррекции тимогеном.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в хозяйстве промышленного типа и на кафедре внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства ФГБОУ ВО Костромская ГСХА.

Из 38 хряков, кастрированных открытым способом, методом случайной выборки отобрали 14 животных, которых распределили на две группы с соблюдением принципа парных аналогов – контрольную и подопытную ($n=7$ в каждой). Перед оперативным вмешательством животным внутримышечно инъецировали кетоджект – нестероидный противовоспалительный препарат (внутримышечно), обладающий также анальгезирующим и жаропонижающим действиями. В послеоперационный период медикаментозное сопровождение заключалось в повторном применении вышеуказанного препарата, а



Рис. Дизайн исследования

также кобактана 2,5% из группы цефалоспоринов в виде суспензии для инъекций, ежедневно, трехдневным курсом; хипратоника спрея (хлортетрациклина 20 мг/см³ в форме гидрохлорида), один раз в сутки трехдневным курсом. Хрякам подопытной группы дополнительно инъецировали тимоген (препарат РВ-2), являющийся синтетическим аналогом одного из гормонов тимуса, в дозе 100 мкг/см³/голову.

Забор крови для исследования проводили до, и на 14- и 30-е сутки после оперативного вмешательства. Сыворотку получали общепринятым способом.

Кроме основных биохимических показателей: аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаргатаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего и прямого билирубинов, показателей липидного обмена (холестерола, триглицерида), определяли также лактатдегидрогеназу (ЛДГ), альфа-амилазу, гамма-глутамилтрансферазу (ГГТ). Коэффици-

ент де Ритиса (АсАТ / АлАТ) определяли расчетным методом.

Учитывая разночтения по нормам биохимических показателей различных авторов, мы взяли за основу обобщенные данные по Ю.Г. Васильеву и др. [2], а также референсные интервалы у карликовых свиней по Н.Г. Войтенко и М.Н. Макаровой [3], которые по данным авторов не имели существенных различий с другими породами.

Дизайн исследования представлен на рисунке.

Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере с использованием программного пакета Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В таблице представлены данные, отражающие влияние кастрации хряков в базовом варианте, а также модифицированном (на фоне иммунокоррекции тимогеном) на показатели ферментного, пигментного и липидного обменов. В графе

Таблица

Динамика биохимических показателей свиней после кастрации на фоне иммунокоррекции

Показатель	Норма	Группа	До операции	Время, сут. после операции	
			фон	14-е	30-е
АсАТ, Ед/л	20-47 ¹	к	52,03±8,48	35,27±13,40	38,00±5,10
		п	47,29±5,28	32,47±5,20	39,43±1,97
АлАТ, Ед/л	15-52 ¹	к	69,44±5,10	26,44±6,64***	67,60±8,86 ^{oo}
		п	59,53±3,99	47,45±6,01	60,86±3,14
Коэффициент де Ритиса		к	0,75±0,11	1,77±0,96	1,18±0,60
		п	0,80±0,07	0,70±0,09	0,65±0,03
ЩФ, Ед/л	40-180 ¹	к	174,86±23,33	90,71±23,93*	116,00±17,05
		п	142,29±21,56	63,00±6,56**	123,14±14,54 ^{oo}
Об. билирубин, мкмоль/л	0,3-8,2 ¹	к	6,74±2,60	5,91±2,03	13,68±3,92
		п	8,73±1,75	7,30±2,90	12,00±2,21
Пр. билирубин, мкмоль/л		к	2,11±0,83	2,01±0,70	4,12±1,15
		п	2,80±0,50	2,50±1,03	3,64±0,60
ГГТ, Ед/л	31-52 ¹	к	39,14±3,12	23,91±4,90*	35,64±4,89
		п	44,54±7,58	29,52±7,07	35,99±3,63
ЛДГ, Ед/л	423-1266 ²	к	1443,86±124,99	928,54±268,77	1123,20±73,80
		п	1603,71±123,23	869,98±113,14**	1118,29±150,9*
Альфа-амилаза, Ед/л	1683-3173 ²	к	1946,57±64,62	1111,51±167,8***	1309,00±196,2*
		п	1832,00±186,51	1050,95±108,2**	1582,43±117,3 ^{oo}
Холестерол, ммоль/л	1,05-2,74 ²	к	2,30±0,14	1,74±0,15*	2,98±0,22 ^{oo}
		п	2,31±0,18	2,31±0,23	3,06±0,20 ^{oo}
Триглицерид, ммоль/л	0,12-0,60 ¹	к	0,37±0,03	0,41±0,08	0,85±0,10 ^{oo}
		п	0,42±0,03	0,47±0,05	0,87±0,14 ^{oo}

Примечание: 1. *, **, ***, ^{oo} ^{oo} ^{oo} - $P \leq 0,05; 0,01$ соответственно по отношению к исходному уровню и четырнадцатым суткам внутри группы; 2. ¹ – референсные интервалы по Ю.Г. Васильеву и др. (2015), ² – по Н.Г. Войтенко и М.Н. Макаровой (2020); 3. к – контрольная, п – подопытная группы

«Норма» указаны референсные интервалы. Результаты собственных исследований приведены в виде средней арифметической и ее ошибки.

Анализ таблицы свидетельствует о том, что кастрация в базовом варианте, а также на фоне иммунокоррекции вызвала значительные изменения в биохимическом статусе животных обеих групп, в большинстве случаев имевшие однотипную направленность.

Так, у девяти показателей из 10 они характеризовались на 14-е сутки отрицательной динамикой, а на 30-е – положительной, в пяти случаях, из которых превышали уровень дооперационного периода. Только в отношении триглицеридов отмечали тенденцию к повышению на всех этапах исследований. Коэффициент де Ритиса носил разноплановый характер.

Степень выраженности вариативности

биохимического профиля различалась между группами – контрольной и подопытной, по степени проявления тех или иных адаптационных процессов, направленных на восстановление (оптимизацию) гомеостаза при стрессе, вызванном оперативным вмешательством.

Важное диагностическое значение, как указывает Ю.Г. Васильев и соавт. [2], при изучении ферментного обмена имеет определение активности аминотрансфераз – АсАТ и АлАТ, обычно исследуемых одновременно. Первая из них – АсАТ, относится к группе цитоплазматических ферментов и митохондрий. Высокий уровень ее содержания свидетельствует о некротических поражениях тканей. Вторая – АлАТ представляет собой цитоплазматический белок, в большинстве случаев повышение которого указывает на повреждение печеночной паренхимы.

Как было указано выше, при изучении показателей вариативности ферментного профиля у хряков после кастрации установлено, что динамика содержания аминотрансфераз в сыворотке крови обеих групп хряков на разных стадиях эксперимента, как и других биохимических показателей, подчинялась одним и тем же закономерностям.

Применительно к АсАТ в дооперационный период показатели ее активности в контрольной группе превышали нормативные на 10,7%, а в последующие сроки на 14- и 30-е сутки после кастрации снижались, не выходя за пределы референсных интервалов, до 75,04 и 80,85% уровня от верхней их границы и до 67,79 и 73,03% по отношению к исходному значению. В подопытной группе показатели активности в дооперационный период превышали на 0,62% нормативные, а на 14- и 30-е сутки снижались, не выходя за пределы референсного интервала до 69,09 и 83,89% от нормативного уровня и 68,66 и 83,38% от исходного.

Аналогичную динамику регистрировали и в отношении АлАТ. У хряков контрольной группы фоновые показатели превышали нормативные на 33,54%, на 14- и 30-е сутки по отношению к верхней

границе показатели референсных интервалов они достигали 50,85% ($P \leq 0,001$) и 130,0% уровня, по отношению к исходным значениям – 30,08 и 97,35%.

В подопытной группе динамика показателей активности АлАТ характеризовалась менее существенными изменениями. В дооперационный период показатель в ней превышал нормативный на 14,48%, на 14- и 30-е сутки он находился на уровне 91,25 и 117,04% от верхней границы референсного интервала 79,71 и 102,23% по отношению к исходному.

Можно предположить, что снижение активности аминотрансфераз на раннем этапе эксперимента - на 14 сутки после кастрации обусловлено усиленным катаболизмом, вовлеченных в патологический процесс у хряков после кастрации с последующим развитием интоксикации и поражением печеночной паренхимы. Это подтверждается, как было указано выше, более выраженными изменениями в динамике активности АлАТ, ферментом, являющимся маркером поражения, в первую очередь, печени. Подтверждением этому может служить не только более выраженная динамика показателей ее активности по сравнению с АсАТ, но и большие колебания в интервалах min-max в контрольной группе – $26,44 \pm 6,64$ – $69,44 \pm 5,10$ Ед/л против $35,27 \pm 13,40$ – $52,03 \pm 8,48$ Ед/л, соответственно. Динамика подобных изменений в подопытной группе хряков, обработанных иммунотропным препаратом, носила более плавный характер с весьма незначительными различиями в абсолютных показателях при активности АлАТ $47,45 \pm 6,01$ – $60,86 \pm 3,14$ Ед/л против $32,47 \pm 5,20$ – $47,29 \pm 5,28$ Е/л АсАТ. Полученные данные свидетельствуют, что кастрация хряков вызывает значительное снижение активности аминотрансфераз (в большей степени АсАТ). Применение тимогена в какой-то мере уменьшает (минимизирует) степень подобных изменений, что свидетельствует о гепатопротективном его действии.

В пользу данного предположения свидетельствуют результаты анализа коэф-

фициента де Ритиса. Как указывают Н.А. Горская, Л.Г. Перетягко [4], коэффициент де Ритиса является весьма информативным показателем, отражающим состояние животного. По их данным, средний показатель, принятый за физиологическую норму, составлял $1,02 \pm 0,22$. Регистрация изменчивости в пределах $0,53 - 1,51$ свидетельствует о наличии животных вне границ референсных значений.

Нами установлено, что динамика данных показателей в контрольной и подопытной группах имела разноплановый характер. Так, в контрольной группе до кастрации коэффициент де Ритиса регистрировали на уровне $0,75 \pm 0,11$, $1,77 \pm 0,96$ и $1,18 \pm 0,60$ единиц на 14-е сутки и 30-е послеоперационного периода в подопытной – от $0,80 \pm 0,07$ до $0,70 \pm 0,09$ и $0,65 \pm 0,03$, соответственно, на фоне более низкой степени изменчивости в диапазоне min-max – $0,15$ против $1,02$ в контроле. Можно предположить, как было указано выше, что подобная динамика в контрольной группе связана с более выраженным катаболизмом вовлеченных в воспалительный процесс тканей с последующим развитием интоксикации, негативно влияющей на функцию печени и в значительной степени, нивелирующим действием тимогена в подопытной группе.

Щелочная фосфатаза относится к группе экскреторных ферментов, выделяемых экзокринными железистыми клетками слизистой оболочки желудка и кишечника, печенью и др. Определение ее активности является довольно частым диагностическим приемом при различных поражениях (холециститах, гепатитах, состояниях, обусловленных паразитарными заболеваниями, травмами, лекарственными препаратами и т.д.) [2].

Ее активность на всех этапах эксперимента в обеих группах хряков находилась в пределах физиологической нормы, характеризуясь наиболее высокими показателями в дооперационный период, с последующим статистически достоверным снижением на 14-е сутки в группах: контрольной – в $1,93$ раза ($P \leq 0,05$), подопытной в $2,26$ ($P \leq 0,001$), а затем на 30-е по-

вышением по сравнению с катаболической фазой в $1,23$ и $1,95$ ($P \leq 0,01$) раза, соответственно до $66,34$ и $86,54\%$ от исходного уровня. Можно предположить, что отрицательная динамика ее содержания обусловлена анемией вследствие кровопотери при операции. Подтверждением этому могут служить полученные ранее данные об уменьшении количества эритроцитов и уровня гемоглобина на 14-е сутки послеоперационного периода у хряков [5]. Более интенсивное восстановление активности фермента к концу эксперимента в подопытной группе по сравнению с контрольной позволяет судить о благоприятном влиянии тимогена на воспалительный процесс после кастрации.

Известно, что уровень общего билирубина в норме отражает процесс разрушения гемоглобина и гемопротеинов с последующей трансформацией в обмене веществ, вначале в биливердин, а затем в непрямой билирубин. Последний, соединяясь в печени с глюкуроновой кислотой и теряя при этом свою токсичность, превращается в прямой билирубин, который выделяется с желчью. Таким образом, по содержанию общего билирубина в сыворотке крови можно судить о функциональном состоянии печени и желчевыводящих путей. Следует отметить, что его увеличение концентрации в сыворотке крови выше физиологической нормы (гипербилирубинемия) может быть обусловлена также нарушением на любой стадии пигментного обмена [2, 6].

В эксперименте динамика показателей общего и прямого билирубинов как в контрольной, так и подопытной группах была одинакова. Уровень содержания пигментов в дооперационный период был близок к верхним границам физиологической нормы. Вместе с тем следует отметить на 14-е сутки после кастрации тенденцию к их уменьшению против исходного уровня в контрольной группе в $1,14$ и $1,05$ раза, подопытной – в $1,2$ и $1,12$, соответственно. Дальнейшие изменения в динамике сопровождалась гипербилирубинемией. Они были более выражены в контрольной группе, сопровождаясь уве-

личением общего билирубина по отношению к верхней границе физиологической нормы в 1,67 раза против 1,46 в подопытной. Исходные показатели, общего и прямого билирубина на 14-й сутки послеоперационного периода у животных подопытной группы превышали контрольную в 1,30 и 1,24; 1,33 и 1,24 раза, а к концу эксперимента регистрировали обратную динамику – увеличение в контрольной в 1,14 и 1,13 раза против подопытной с превышением верхней границы референсных интервалов на 66,83 и 46,34%, соответственно. Полученные данные свидетельствуют о неблагоприятном действии кастрации на функцию печени, а также свидетельствует о гепатопротективных свойствах тимогена, позволивших на 20,49% снизить интенсивность гипербилирубинемии в подопытной группе по сравнению с контрольной.

Гамма-глутамилтрансфераза – фермент митохондрий, также содержащийся в значительных количествах в печени, почках, поджелудочной железе, сердце [2]. В опыте ее уровень в дооперационный период и к концу опыта находился в пределах нормативных значений. На 14-е сутки в обеих группах отмечено значительное снижение уровня фермента ниже нормативного в контрольной группе до 61,09% ($P \leq 0,05$) уровня исходного, в подопытной – 66,28%, с последующим повышением на 30-е сутки до 91,06 и 80,80%, соответственно, до показателей, находящихся в пределах референсных интервалов.

Исходные показатели активности лактатдегидрогеназы превышали физиологическую норму в контрольной и подопытной группах на 14,05 и 30,81%. В послеоперационный период на 14-е сутки они снижались, до уровня референсных значений и по отношению к исходным составляли 64,31 и 51,25%, верхней границы контрольных показателей – 73,34 и 68,72%, соответственно. На заключительном этапе исследований характеризовалась положительной динамикой по сравнению с предыдущим. Показатели ее активности находились в пределах 82,72 и

89,33 % уровня от верхней границы референсных интервалов.

Содержание альфа-амилазы – фермента, участвующего в углеводном обмене, в дооперационный период в обеих группах находилось в пределах референсных интервалов, а на 14- и 30-е сутки было ниже физиологической нормы. На 14-е сутки показатель ее активности по сравнению с исходным в контрольной и подопытной группах статистически достоверно снизился на 42,90 ($P \leq 0,001$) и 42,63% ($P \leq 0,01$), а на 30-е – увеличился по сравнению с 14 сутками на 17,77 и 50,57% ($P \leq 0,01$). В итоге уровень альфа-амилазы составил 67,25 и 86,39% по отношению к дооперационному значению и 77,78 и 94,02% от уровня нижней границы референсного интервала. Полученные данные позволяют предположить об оптимизирующем действии тимогена на содержание амилазы после кастрации хряков.

Следует отметить, что большинство исследователей считают, что между активностью данного фермента и концентрацией глюкозы в сыворотке крови существует обратная зависимость. Подобной динамики мы не наблюдали, что по мнению Л.Г. Кислицыной и соавт. [6] свидетельствует о регуляции содержания глюкозы в сыворотке крови хряков в большей степени гормонами (инсулином, глюкагоном, катехоламинами, глюкокортикоидами).

Показатели холестерина в дооперационный период и на 14-е сутки после кастрации у хряков находились в пределах физиологической нормы. На 14-е сутки у животных подопытной группы содержание холестерина оставалась на прежнем уровне, в то время как в контрольной снижалась на 24,35% ($P \leq 0,05$). Можно предположить, что подобная картина в контроле обусловлена в этот период преобладанием процессов катаболических над анаболическими. Это согласуется с мнением Тухватшина Р.Р. и соавт. [9] о том, что уменьшение концентрации холестерина – является показателем энергетической недостаточности организма и признаком снижения восстановительных процессов в

мембранах клеток. По-видимому, такой эффект у подопытных животных обусловлен действием тимогена, который оказывая противовоспалительное действие снижает степень проявления катаболических процессов.

На заключительном этапе эксперимента динамика холестерина сопровождалась статистически достоверным увеличением по сравнению с исходными значениями в 1,30 и 1,32 раза, нормативными в 1,08 и 1,11 раза в контрольной и подопытных группах.

Известно, что триглицериды являются источником энергии для организма. В основном они содержатся в жировой ткани. Находящаяся из них часть в сыворотке крови обеспечивает мышцы энергией. Согласно данным исследований биохимического профиля концентрация триглицеридов в сыворотке крови у хряков обеих групп характеризовалась положительной динамикой показателей, в пределах референсных интервалов в дооперационный период и на 14-й день после кастрации с превышением нормативных значений в конце опыта в 2,3 раза в контрольной и в 2,02 – в подопытной. Можно предположить, что подобные изменения обусловлены кастрацией из-за отсутствия полового гормона – тестостерона, который по утверждению Ю.Г. Васильева и соавт. [2] стимулирует разрушение жира.

ВЫВОДЫ

Представленные данные свидетельствуют, что кастрация хряков вызывает значительные изменения в биохимическом профиле, в большинстве случаях, имевших однотипную направленность. Из 10 показателей ферментного, пигментного и липидного обменов 9 характеризуются на начальном этапе исследований на 14-е сутки отрицательной динамикой, на заключительном на 30-е – положительной.

Наиболее выраженные изменения регистрируют в катаболическую фазу в ферментной системе показателей – аминотрансфераз (особенно АлАТ, гамма-глутамилтрансферазы, лактатдегидрогеназы, альфа-амилазы). Для анаболической

стадии характерна нормализация показателей АсАТ, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, лактатдегидрогеназы; ниже исходного, но превышающие нормативы – АлАТ; верхнюю границу референсных интервалов – общего билирубина, холестерина, триглицеридов.

Применение тимогена снижает негативное влияние оперативного вмешательства, особенно в катаболическую фазу и способствует более быстрой нормализации показателей, отражающих ферментный обмен. Динамика в подопытной группе характеризуется меньшей амплитудой и интервалами в диапазоне min – max по сравнению с контрольной.

Не отмечено существенных различий в динамике показателей пигментного и липидного обмена между группами. Исходные их значения, а также в катаболическую фазу в большинстве случаев находились в пределах референсных показателей, а в анаболическую (на 30-е сутки) несколько их превышали по уровню общего билирубина, холестерина, триглицеридов.

INFLUENCE OF BOAR CASTRATION ON THE BACKGROUND OF IMMUNOCORRECTION ON THE PIGMENT, ENZYME AND LIPID METABOLISM

Reshetnyak V. V. – PhD (Vet. Sci.), Associate Professor, FSBEI HE “Kostroma State Agricultural Academy”,

Stekolnikov A. A. – Dr. habil. (Vet. Sci.), Full Professor, Active member of the Russian Academy of Sciences (RAS), FSBEI HE “St. Petersburg State University of Veterinary Medicine”,

Burdeyniy V. V. – Dr. habil. (Vet. Sci.), Full Professor,

Malakhova L. V. – PhD (Vet. Sci.), Associate Professor, FSBEI HE “Kostroma State Agricultural Academy”

ABSTRACT

The article presents data on the effect of castration on changes in indicators reflecting pigment, enzyme and lipid metabolism. The experiments were carried out on 14 boars (aged 5 month), divided into two groups – control and experimental (n=7 in each). Medical support before castration (using an

open method) consisted of an intramuscular injection of ketoject, and during the post surgery period – in the repeated use of the abovementioned drug, as well as cobactan and hipratopic spray. The boars of the experimental group were additionally injected with thymogen, which is a synthetic analogue of one of the thymus hormones.

Blood sampling was performed before the surgery, as well as on the 14th and 30th day after it; serum was obtained by the conventional method. The content of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, total and direct bilirubins, cholesterol, triglyceride, lactate dehydrogenase, α -amylase, γ -glutamyltransferase were determined and the de Ritis coefficient was calculated.

It was found that castration in both the control and experimental groups (against the background of immunocorrection) caused significant changes in the biochemical status of animals in both groups, in most cases having the same pattern. Thus, on the 14th day, 9 out of 10 indicators were characterized by negative dynamics, and on the 30th – by positive, in five cases of which they exceeded the level of the pre-surgery period. Only in relation to triglycerides, an upward trend was noted at all stages of the studies. The de Ritis coefficient was diverse.

The most pronounced changes were recorded at the catabolic phase in the enzymatic system of indicators – aminotransferases (especially ALT, γ -glutamyltransferase, lactate dehydrogenase, α -amylase). The anabolic phase is characterized by the normalization of indicators of AST, alkaline phosphatase, γ -glutamyl transferase, lactate dehydrogenase; below the initial, but exceeding the standard values – ALAT; upper limit of reference intervals – total bilirubin, cholesterol, triglycerides.

The use of thymogen significantly reduced the negative impact of surgery, especially at the catabolic phase, and contributed to a more rapid normalization of indicators reflecting enzyme metabolism. Their dynamics in the experimental group was characterized by a smaller amplitude and intervals in the min – max range compared to the control

group. At the catabolic phase (in most cases), there were no significant differences in the dynamics of lipid and pigment metabolism between the groups (against the background of reference values); at anabolic phase – an increase in the level of total bilirubin, cholesterol and triglycerides.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белый, Д.Д. Обоснование иммунологической кастрации хряков. / Д.Д. Белый, С.А. Агиевец // Архивариус, 2016. – №3(7). С. 142 – 145.
2. Васильев Ю.Г., Трошин Е.И., Любимив А.И. Ветеринарная клиническая гематология: Учебное пособие. – СПб.: Издательство «Лань», 2015. – 656 с.
3. Войтенко Н.Г. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 3: карликовые свиньи / Н.Г. Войтенко, М.Н. Макарова // Лабораторные животные для научных исследований. – №3. – 2020. – С. 7-15.
4. Горская Н.А. Особенности основных показателей обмена белков у хряков полтавской породы / Н.А. Горская, Л.Г. Перетягко // Труды ВИЭВ. – Т.80. Ч. II. – 2018. – С. 104-109.
5. Динамика гематологических показателей при кастрации хряков на фоне иммунокоррекции / В. В. Решетняк, А. А. Стекольников, В. В. Бурдейный, Л. В. Малахова // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 177-184. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.177.
6. Кислицкая Л.Г. Динамика углеводного, минерального и пигментного обменов откормочных свинок при разном уровне протеинового питания / Л.Г. Кислицкая, В.М. Мешков, А.П. Жуков // Известия оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. – № 2 (58). – С. 74 – 77.
7. Сахно, Н.В. Иммуная реактивность организма собак на травму трубчатых костей и имплантацию металлических фиксаторов. // Ветеринарная патология, 2010. – №1. – С. 81 – 84.
8. Стекольников, А.А. Эффективность применения иммуностимулятора РВ-1 при кастрации поросят / А.А. Стекольников, В.В. Решетняк, В.В. Бурдейный // Вопросы нормативно – правового регулирования

ния в ветеринарии, 2018.- №1 – С. 86-89.
9. Тухватшин Р.Р. Биохимические показатели крови у животных различного возраста при отравлении тяжелыми металлами / Р.Р. Тухватшин, З. М. Аумалдаева, Т.С. Абаева, А.А. Исупова // Медицина и фармакология. – 2017. – № 1 (35). – С. 50 – 54.

10. Чапанов, С.-Х.С. Особенности течения раневого процесса у крупного рогатого скота при различных состояниях иммунологического статуса: Автореф. дис ... канд. вет. наук: СПб. - 1991. – 17 с.

УДК 617.577-022.7-07/.08:636.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.182

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ БОЛЕЗНИ МОРТЕЛЛАРО У КОРОВ С УЧЕТОМ ЛАКТАЦИЙ (ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА)

д.в.н. Б.С. Семенов, к.б.н. Т.Ш. Кузнецова, к.в.н. А.В. Назарова, А.Д. Шушакова, студент ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Ключевые слова: болезнь Мортелларо, пальцевый дерматит, молочные коровы, букочный деготь, тетрацилин **Keywords:** Mortellaro's disease, finger dermatitis, dairy cows, beech tar, tetracycline

РЕФЕРАТ

Пальцевый дерматит, болезнь Мортелларо (Mortellaro's disease) – одна из часто встречающихся болезней копытец крупного рогатого скота в хозяйствах, которая может приводить к значительным экономическим убыткам. Пальцевый дерматит считается полибактериальным заболеванием, при котором состав микробиома изменяется по мере прогрессирования разных стадий болезни. Согласно литературным данным такие бактерии как трепонема, микоплазма, порфиромонада и/или фузобактерии могут играть ключевую роль в патогенезе пальцевого дерматита. Пальцевый дерматит крупного рогатого скота имеет стадийность от незначительных изъязвлений до гипер- и дискератического разрастания сосочкового слоя основы кожи. Очаги локализуются на пальмарной или плантарной поверхности пальцев и копытец, между пальцами, по периметру венчика, под рудиментарными пальцами и над роговой капсулой. В статье оценивается частота встречаемости, влияние на продуктивность молочных коров и сравнивается эффективность лечения болезни Мортелларо с использованием букочного дегтя и спрея Тетрацилин. Пальцевый дерматит был выявлен у 1,5% животных. Чаще всего пальцевый дерматит различных стадий был идентифицирован у коров II, III, IV и более лактации. Было определено снижение среднесуточных удоев у коров с болезнью Мортелларо – 21,78 кг молока, при этом среднее значение по хозяйству составляет 24 кг. Также при осеменении 14 коров из 18 больных животных после первого осеменения 42,9% были нестельными. У 90% животных были поражены тазовые конечности, патологические очаги были локализованы в области пятки в 74 % случаев, в межкопытцевом своде в 23%, и 3% в венчике. У 78% животных была поражена одна конечность. Хирургическое удаление пораженных тканей, использование повязки с Букочным дегтем сокращало сроки лечения на 5-7 дней по сравнению с использованием Тетрацилин –спрея.

ВВЕДЕНИЕ

Пальцевый дерматит (болезнь Мортелларо, Mortellaro's disease) – инфекционное заболевание копытцев крупного рогатого скота диагностируют преимущественно на тазовых конечностях. В настоящее время это одна из самых распространенных болезней крупного рогатого скота, которая наносит большой экономический ущерб как молочному, так и мясному животноводству [1, 2, 3, 4, 6]. Пальцевый дерматит считается полибактериальным заболеванием, при котором состав микробиома изменяется по мере прогрессирования разных стадий болезни. При развитии болезни из пораженных мест выделяется большое разнообразие микроорганизмов [3, 6]. По данным авторов [5] такие бактерии как трепонемы, микоплазмы, порфириомонады и/или фузобактерии могут играть ключевую роль в патогенезе пальцевого дерматита.

По разным литературным источникам частота встречаемости пальцевого дерматита может достигать до 80% среди поголовья крупного рогатого скота. Чаще распространенность данной болезни составляет около 20% в стаде [1, 3, 5].

Пальцевый дерматит крупного рогатого скота имеет стадийность от незначительных изъязвлений до гипер- и дискератического разрастания сосочкового слоя основы кожи. Внешне язвы напоминают ягоды земляники, поэтому заболевание иногда называют «клубничная гниль». Очаги локализуются на пальмарной или плантарной поверхности пальцев и копытцев, между пальцами, по периметру венчика, под рудиментарными пальцами и над роговой капсулой [2]. Быстрое распространение заболевания, болезненность и хромота животных приводят к снижению продуктивности и экономическим потерям.

Пальцевый дерматит – трудноизлечимая болезнь, так как возбудитель может проникать глубоко в ткани, что усугубляет поражение и затрудняет лечение [5].

Целью исследования было определить распространенность болезни Мортелларо среди поголовья коров молочного направ-

ления продуктивности и оценить эффективность лечения и профилактики.

Задачами работы были – оценка частоты встречаемости болезни Мортелларо у коров разных возрастных групп, наличие сопутствующих заболеваний, определение продуктивности больных животных, лечение пальцевого дерматита различными препаратами и сравнительная оценка эффективности проведенного лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на коровах молочного направления продуктивности голштинизированной черно-пестрой породы в возрасте от 2 до 6 лет в одном из хозяйств Ленинградской области. Животные находились в секциях по 60 голов, на беспривязном содержании, станки для отдыха были снабжены специальными резиновыми матами. Коровы имели постоянный доступ к воде, кормление осуществляли 2 раза в день, рацион был подобран для каждой группы коров и телок (состоит из силоса, концентрированных кормов, сена), удаление навоза автоматическое с помощью дельта-скреперов, доение 2 раза в день, система доения – карусель, удой – 24 кг молока, массовая доля жира – 3,4%.

Для диагностики пальцевого дерматита проводили наблюдение за животными и клинические исследования. В начале обращали внимание на положение конечностей коров во время стояния и движения, регистрировали наличие хромоты и оценивали степень. Затем путем клинического осмотра диагностировали язвенные поражения, свойственные пальцевому дерматиту.

Для оценки эффективности лечения животных разделили на две группы по 9 голов в каждой: в первой группе коров проводили лечение с использованием Тетрациклин-спрея, во второй группе животных на обработанную хирургически поверхность наносили Буковый деготь и закрывали марлевой повязкой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При осмотре животные с пальцевым дерматитом часто переступали с конечности на конечность, меньше опирались на

Таблица 1

Характеристика больных коров с учетом лактации и сопутствующих болезней

Лакта-ция	Стадия бо-лезни Мор-телларо	Кол-во голов	Сопутствую-щие заболева-ния	Осеменение
1	M2	2	пневмония	Не осеменяли
2	M2	2	язва подошвы	Нестельная после I осемене-ния
2	M2	2	ламинит	Нестельная после I осемене-ния
2	M2	1	-	Осеменная
3	M2	1	-	Осеменная
3	M1	1	-	Осеменная
3	M2	2	Мастит	Осеменная
3	M2	2	-	Нестельная после I осемене-ния
4	M2	2	артрит	Осеменная
4	M2	1	метрит	Не осеменяли
4	M2	1	-	Осеменная
5	M3	1	метрит	Не осеменяли

пораженную конечность, чтобы снизить болевые ощущения, при передвижении заметна хромота. В данном хозяйстве пальцевый дерматит был диагностирован у 18 коров (из 1200 голов), из которых 2 первотелки (из 250 – 0,8%), 5 коров 2-ой лактации (из 400 – 1,25%), 6 коров 3-ей лактации (из 400 – 1,25%), 5 коров 4-ой и более лактаций (из 150 – 3,34%), и не диагностирован у телок (900 голов). Таким образом, распространенность пальцевого дерматита в хозяйстве составила 1,5%, из которых 0,17% приходится на первотелок, 0,4% на коров 2-ой лактации, 0,5% на коров 3-ей лактации, 0,4% на коров 4-ой и более лактаций (таблица 1).

Согласно таблице 1 у 12 коров из 18, входящих в различные группы, наблюдались сопутствующие заболевания такие как пневмония, язва подошвы, ламинит, артрит, мастит, метрит. Средние значения удоя у коров с болезнью Мортелларо составили 21,78 кг/сут., что ниже средних значений по хозяйству – 24 кг молока в сутки на одну фуражную корову. При осеменении 14 коров из обеих исследованных групп стали стельными после первого осеменения 8 голов, а остались нестельными 6. Последние осеменались

только после второго осеменения. Таким образом, среди коров с болезнью Мортелларо разных стадий, после первого осеменения нестельными было 42,9 %.

Лечение болезни Мортелларо заключается в наложении повязки с веществами, препятствующими развитию бактерий. Чаще используют антибиотические препараты в виде спреев, мазей и др. Также есть методы лечения с использованием безантибиотических препаратов [1, 3, 5].

Для оценки эффективности лечения нами были сформированы две группы по 9 коров с пальцевым дерматитом (Рис. 1). Обеим группам перед нанесением препарата проводили механическую очистку дистальной части конечности от грязи и навоза до уровня путового сустава, при необходимости проводили обрезку копытцевого рога. Животных фиксировали в станке.

Коровам первой группе (контрольной) для при лечения использовали аэрозоль-спрей Террамицин, который распыляли на пораженный участок на расстоянии 15-20 см дважды с интервалом 30 сек. (Рис. 2)

Для лечения животных второй группы (подопытной) использовали Буковый де-



Рис. 1. Болезнь Мортеларро - язвенные поражения пальца тазовой конечности у коровы



Рис. 2. Обработка аэрозоль-спреем Тетрацилин пораженных участков при пальцевом дерматите у коровы контрольной группы



Рис. 3. Наложение бинтовой повязки с использованием Букового дегтя корове подопытной группы

гошь. Препарат наносили на язвенную поверхность марлевым тампоном. После нанесения препарата накладывали марлевую салфетку и фиксировали ее несколькими турами бинта. Ревизию патологического очага осуществляли через каждые 2-3 дня до полного выздоровления животного (Рис. 3).

В результате проведенных исследований изучили состояние места поражения у животных. Во время ревизии определяли сроки формирования грануляций, руб-

цевания дефекта, сроки исчезновения хромоты, размеров и границ отека. Общий период наблюдений составил 24 дня.

В первой группе животных, лечение которых проводили с использованием Тетрацицина, положительная динамика течения заболевания менее выражена. У всех животных наблюдалось снижение степени хромоты, образование полноценного струпа. У этих животных формирование грануляционной ткани происходи-

ло на 10 ± 3 сутки, рубцевание дефекта на $20 \pm 2,5$ сутки, исчезновение хромоты на 5 ± 1 сутки после начала лечения. Кратность обработки копыт составила 3 ± 1 раз. Выздоровление происходило в течение 20 ± 3 дней.

У второй группы коров формирование грануляционной ткани происходило на 8 ± 1 сутки, рубцевание дефекта на 16 ± 2 сутки, исчезновение хромоты на 4 ± 1 сутки после начала лечения. Выздоровление в течение 15 ± 3 сутки.

Было определено, что при болезни Мортелларо в основном поражаются тазовые конечности (90% животных). Патологические образования были локализованы в пяточной области у 74% коров, в межкопытцевом своде у 23% и венчике у 3%. Чаще поражается только одна конечность (78%), реже – две (22%). Полученные результаты коррелируют с исследованиями других авторов [1,2,3].

Низкая распространенность пальцевого дерматита в хозяйстве связана с эффективностью профилактики этой болезни. Для профилактики используют копытные ванны с дезинфицирующими дубильными средствами, такими как растворы тетрациклина 0,1%, медного купороса 5%, формалина 2% и др. Важную роль также играет отсутствие предрасполагающих факторов болезни, таких как влажная подстилка, сырость, неудовлетворительная работа систем навозоудаления, поврежденные копыта, травмы, трещины на копытах, снижение иммунитета, пассивный моцион, несбалансированное кормление, стресс и др [3, 5].

ВЫВОДЫ

Пальцевый дерматит был выявлен у 1,5% животных, что является, согласно литературным данным, низким показателем. Наиболее часто болезнь Мортелларо была диагностирована у коров II, III, IV и более лактации. Молочная продуктивность у больных животных была ниже (21,78 кг/сут) по сравнению со средними значениями в хозяйстве (24 кг/сут). После первого осеменения коров с болезнью Мортелларо процент нестельных составил 42,9%.

В 90% случаев были поражены тазовые конечности, патологические очаги были локализованы в области пятки в 74 % случаев, в межкопытцевом своде в 23%, и 3% в венчике. У 78% животных была поражена одна конечность.

При лечении лучшие результаты показало применение Букового дегтя, который сокращает сроки заживления язвенной поверхности на 5-7 дней по сравнению с лечением аэрозоль-спреем Тетрациклином. Эффективность применения Букового дегтя в лечении пальцевого дерматита у коров обеспечивается за счет его кератолитических, антисептических, противовоспалительных, противомикробных и подсушивающих свойств. Таким образом, применение Букового дегтя в сочетании с хирургической обработкой патологического очага при болезни Мортелларо показало положительную динамику выздоровления у животных. Своевременные мероприятия в виде ножных ванн с дезинфицирующими дубильными средствами, контроль факторов, предрасполагающих к болезни играют важную роль в профилактике распространения пальцевого дерматита у дойных коров и сохранению продуктивности животных.

PREVALENCE OF MORTELLARO DISEASE IN COWS, TAKING INTO ACCOUNT LACTATION (TREATMENT AND PREVENTION)

B.S. Semenov, Grand PhD in Veterinary Medicine and Science, Professor of the Department of Obstetrics and Operative Surgery St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, T.S. Kuznetsova, PhD of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary Genetics and Animal Husbandry St. Petersburg State University of Veterinary Medicine; A.V. Nazarova, PhD of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Obstetrics and Operative Surgery St. Petersburg State University of Veterinary Medicine; A.D. Shushakova, student, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine;

ABSTRACT

Digital dermatitis, Mortellaro's disease, is one of the most common diseases of the

hooves of cattle on farms, which can lead to significant economic losses. Digital dermatitis is considered a polybacterial disease in which the microbiome composition changes as the different stages of the disease progress. According to the literature, bacteria such as treponemas, mycoplasmas, porphyromonas and/or fusobacteria may play a key role in the pathogenesis of digital dermatitis. Cattle digital dermatitis has a staging ranging from minor ulcerations to hyper- and dyskeratic proliferation of the papillary layer of the skin base. The foci are localized on the palmar or plantar surface of the fingers and hooves, between the fingers, along the perimeter of the corolla, under the rudimentary fingers and above the horn capsule. The article evaluates the frequency of its occurrence, the impact on the productivity of dairy cows and compares the effectiveness of the treatment of Mortellaro's disease with the use of beech tar and Terramycin spray. In the studied livestock, digital dermatitis was detected in 1.5% of animals. Most often, digital dermatitis of various stages was identified in cows of II, III, IV and more lactation. A decrease in the average daily milk yield in cows with Mortellaro disease was determined - 21.78 kg of milk, while the average value for the household is 24 kg. Also, the insemination of 14 cows out of 18 sick animals after the first insemination 42.9% were barren. In 90% of the animals, the pelvic limbs were affected, pathological foci were localized in the heel area in 74% of cases, in the interhoof arch in 23%, and in the corolla

in 3%. In 78% of the animals one limb was affected. Surgical removal of the affected tissues, the use of a bandage with beech tar reduced the treatment time by 5-7 days compared with the use of Terramycin spray.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стекольников, А.А. Применение букового дегтя при лечении пальцевого дерматита (болезнь мортелларо) у коров / А.А. Стекольников, В.В. Байлов, Абу Сахюн Сами, М.К. Букай // Международный вестник ветеринарии. -2019;(2).- с.171-174.
2. Руколь, В.М. Болезнь Мортелларо / В.М. Руколь // Животноводство России. – Март. – 2018. – с. 57-59
3. Van Hierden Effectiviteit Klausan op genezing Mortellaro / Van Hierden, Winand Kissels, J.J. Lievaart // Tijdschrift Voor Diergeneeskunde.- January. - 2017(1):30-35
4. Syring, C. Acute outbreak of lameness due to inflammatory claw disease in a beef herd / C. Syring, B. Berchtold, M. Alsaad, M. Meylan // Schweiz Arch Tierheilkd – 2019. -Oct;161(10). – P. 689-696
5. Caddey, Ben Meta-Analysis of Bovine Digital Dermatitis Microbiota Reveals Distinct Microbial Community Structures Associated With Lesions / Ben Caddey, Jeroen De Buck // Front Cell Infect Microbiol. – 2021. - Jul 16;11:685861.
6. Direct.Farm [Электронный ресурс]: Болезнь Мортелларо. Болезни животных. / Краснодарский край, 2021. URL: https://direct.farm/?view=post_4458 (дата обращения: 26.01.2022).

УДК 615.38:617-001.17/.18:599.323.45
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.188

ВЛИЯНИЕ БЕСКЛЕТОЧНОЙ И ТРОМБОЦИТАРНОЙ ПЛАЗМЫ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ОЖГОВОЙ РАНЫ У КРЫС

М.В. Свердлова - аспирант кафедры общей и частной хирургии (ORCID: 0000-0002-4835-9915), А.А. Стекольников - д.в.н., профессор кафедры общей и частной хирургии (ORCID: 0000-0002-9519-2839), А.О. Минина - к.в.н., ассистент кафедры общей и частной хирургии (ORCID: 0000-0002-4176-4053), А.В. Бокарев - д.в.н., доцент кафедры общей и частной хирургии (ORCID: 0000-0002-4623-5388)
ФГБОУ ВО СПбГУВМ

Ключевые слова: ожог, рана, крысы, тромбоцитарная плазма, безтромбоцитарная плазма, регенерация, эпителизация. **Keywords:** burn, wound, rats, platelet plasma, plasma without platelets, regeneration, epithelization.



РЕФЕРАТ

В представленном исследовании проведен анализ заживляющего эффекта чистой бесклеточной плазмы и плазмы обогащенной тромбоцитами. Исследование проводилось на крысах линии «Вистар». Для проведения эксперимента были сформированы три группы крыс: контрольная и две опытные (№1, № 2). Ожоговые раны наносились животным под севофлурановым наркозом в межлопаточной области оمدенным диском диаметром 20,0 мм нагретым в пламене газовой горелки до температуры 300,00С путем прикладывания его на 2,0 - 3,0 секунды. В группе контроля лечение ожоговых ран не проводилось, но для уменьшения болевого синдрома использовали поверхностное нанесение аэрозольного 10% лидокаина. Крысам опытных групп № 1 и № 2 лечение ожоговых ран плазмой начинали на 5 сутки после нанесения травмы. Крысам опытной группы №1 проводили лечение путем введения под и вокруг ожога бесклеточной плазмы. Крысам опытной группы №2 лечение проводили путем введения под и вокруг ожога плазмы обогащенной тромбоцитами. Мониторинг и оценку заживления ран осуществляли путем измерения их площади. Фото фиксацию и фото документирование осуществляли на момент нанесения ожоговой раны и далее на пятый день после травмы (первое введение образцов плазмы), на 14 день после травмы, на 23 день после травмы и на 30 день после травмы. Результат исследования показал, что и бесклеточная плазма, и плазма обогащенная тромбоцитами ускоряют заживление ожоговой раны в сравнении с контролем. Но тромбоцитарная плазма в сравнении с бесклеточной плазмой оказывает более сильный лечебный эффект значительно ускоряя контракцию краев раны в самые первые дни после введения.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее широко используемых методов регенеративной медицины является введение в область патологического очага пациента его же собственной (аутологичной) плазмы крови обогащенной тромбоцитами [1, 2, 4, 6, 7]. Научным

обоснованием эффективности данного метода является то, что тромбоциты являются природными эндогенными хранилищами и переносчиками большого количества факторов роста, обладающих митогенными свойствами по отношению к клеткам участвующим в процессе регене-

рации [2, 6, 7, 8]. Согласно современным представлениям о процессах индукции регенерации, тромбоциты, попадая в зону патологического очага, связываются с молекулярными потернами повреждения (DAMPs) и друг с другом, активируются и выделяют факторы роста. Которые, в свою очередь, активируют стволовые клетки, способные к пролиферации и дифференцировке. Исходя из этой концепции, среди практикующих врачей закрепилось мнение, что чем больше концентрация тромбоцитов в выделенной плазме, тем выше её ранозаживляющий эффект. Однако это мнение в ряде случаев опровергается некоторыми исследованиями. Так показано, что при экспериментальном лечении повреждения крестовидной связки у свиней, плазма бедная тромбоцитами оказывала то же действие, что и плазма обогащенная тромбоцитами [10]. В другом исследовании показано, что плазма с большим содержанием тромбоцитов замедляла заживление экспериментальных ран у лошадей в сравнении с плазмой содержащей малое количество тромбоцитов [9]. Аналогичная ситуация может иметь место и в том случае, когда сравниваются не концентрации тромбоцитов, а проводится анализ лечебного действия тромбоцитарной плазмы при той или иной патологии. Дело в том, что при анализе литературных источников,

размещенных в свободном доступе, нами было замечено, что при изучении лечебного эффекта аутологичной тромбоцитарной плазмы, исследователи не всегда проверяют клеточный состав конечного продукта. И по факту, анализируя чужие исследования, мы можем исходить из неправильных предпосылок, поскольку не можем быть точно уверены были ли вообще в используемой плазме тромбоциты. И, соответственно, не можем сделать правильный вывод, чем был индуцирован лечебный эффект, сывороточными факторами или факторами тромбоцитов. Ранее мы показали, что аутологичная, но безтромбоцитарная плазма для здоровой кожи крыс обладает флогогенным эффектом [3, 5]. В настоящей работе наше исследование направлено на выяснение заживляющего эффекта бесклеточной плазмы и плазмы обогащенной тромбоцитами при лечении ожоговой раны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С целью сравнения ранозаживляющей эффективности бесклеточной плазмы и плазмы обогащенной тромбоцитами их действие проверяли на модели ожоговой раны 3 степени. В качестве объектов исследования использовали 30 крыс линии «Вистар», которые были разделены на три группы: контроль и две опытные (№ 1, № 2). В контрольной группе лечение не проводили, но для уменьшения болевого

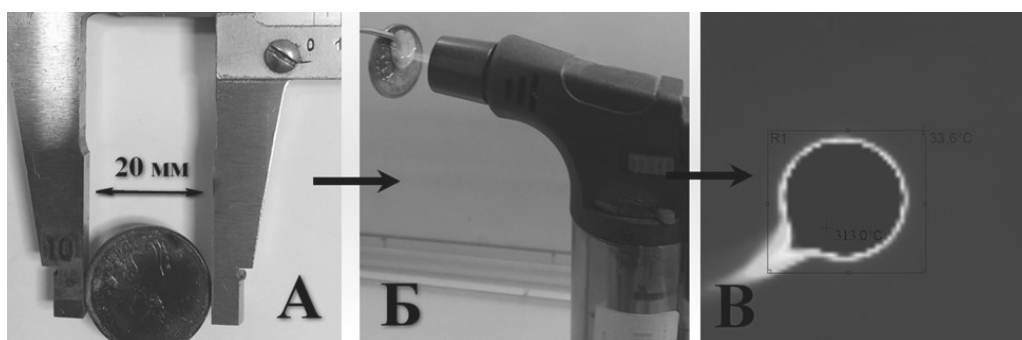


Рис. 1. Подготовительные процедуры нанесения ожоговой раны лабораторным крысам. А - омедненный диск диаметром 20 мм. (50(ти) копеечная монета), Б - помещение омедненного диска в пламя газовой горелки, В - нагрев омедненного диска в пламени газовой горелки, примерно, до 300,00С (термографическое изображение).

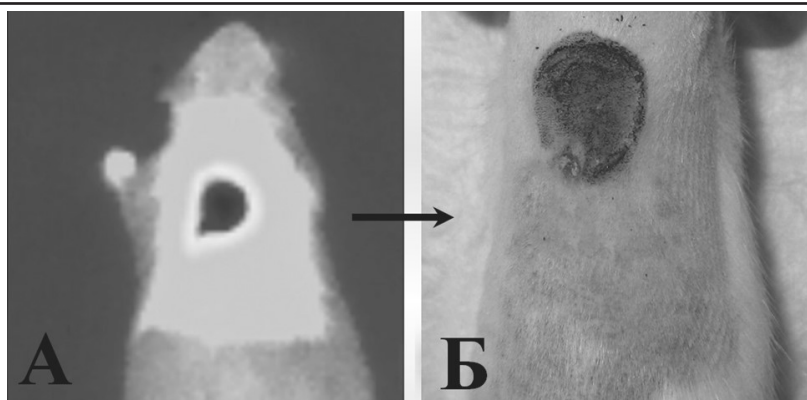


Рис. 2. Методика нанесения ожоговой раны 3-степени лабораторным крысам. А - аппликация нагретого омедненного диска на кожу животного на 2 - 3 секунды (термографическое изображение). Б - внешний вид ожоговой раны сразу после ее нанесения.

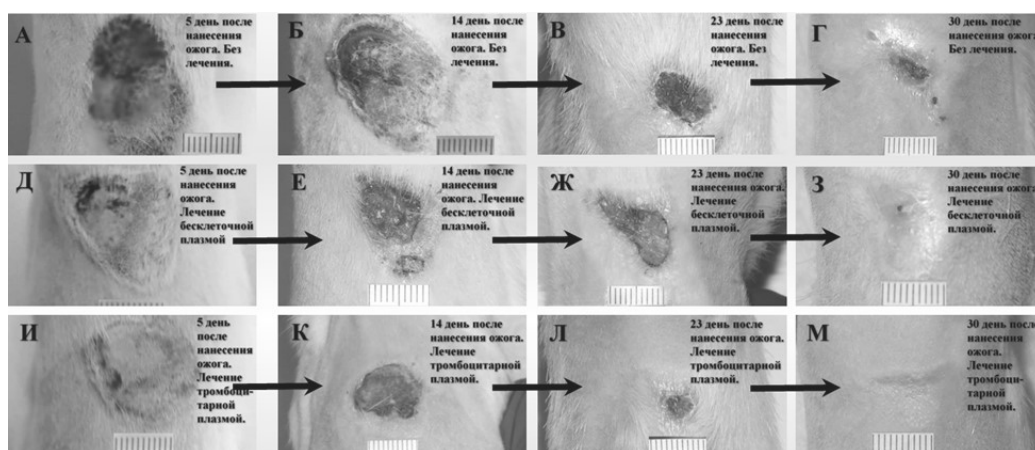


Рис. 3. Влияние бесклеточных и клеточных образцов аутологичной плазмы на динамику заживления ожоговых ран у лабораторных крыс
А; Б; В; Г - контрольные животные. Лечение не проводилось. Д; Е; Ж; З - бесклеточная плазма. И; К; Л; М - плазмы обогащенная тромбоцитами. Плазму вводили в дозе 0,1 мл каждые 5 - 7 дней начиная с пятого дня после нанесения термической травмы. Визуальная оценка результата указана на 5, 14, 23 и 30 день после нанесения ожога.

синдрома использовали поверхностное нанесение аэрозольного 10% лидокаина, в опытной группе № 1 лечение проводили путем введения вокруг и под ожоговую рану бесклеточной плазмы, в опытной группе № 2 лечение проводили путем введения вокруг и под ожоговую рану плазмы обогащенной тромбоцитами. В качестве предмета наносящего термическую травму использовали омедненный

диск диаметром 20,0 мм нагретый в пламене газовой горелки до температуры 300,00С (Рисунок 1). Перед нанесением ожоговых ран животных вводили в наркоз при помощи севофлурана.

Нагретый диск прикладывали на 2,0 - 3,0 секунды к предварительно выбритой коже крыс в межлопаточной области (Рисунок 2 А). Производили фото фиксацию полученных повреждений с целью

Таблица 1

Изменение в процессе лечения площади раневого дефекта вызванного термической травмой. Экспериментальный объект крысы линии «Вистар».

N	Вид лечения	n	Размер раны на момент исследования (см ²)*				Размер рубца на 30 день (см ²)
			5 суток	14 суток	23 суток	30 суток	
1	Контроль (без лечения)	n=10	4.54±0.26	4.43±0.16	0.99±0.17	0.48±0.07	3.45±0.46
2	Опыт №1 (бесклеточная плазма)	n=10	4.32±0.42	2.92±0.58	1.00±0.29	0.10±0.05	2.88±0.47
3	Опыт №2 (тромбоцитарная плазма)	n=10	4.67±0.27	1.23±0.47	0.20±0.07	0.02±0.03	0.24±0.07
* - на момент создания средний размер ожоговой раны всех животных (n=30) составлял 4,25±31 см ² .							
ДОСТОВЕРНОСТЬ РАЗЛИЧИЯ Множественные сравнения - критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони			3 и 2: t=3.03 P<0.05 3 и 1: t=1.51 P>0.05 1 и 2: t=1.51 P>0.05	1 и 3: t=16.23 P<0.05 1 и 2: t=10.86 P<0.05 2 и 3: t=25.38 P<0.05	2 и 3: t=9.02 P<0.05 2 и 1: t=0.11 P>0.05 1 и 3: t=8.91 P<0.05	1 и 3: t=11.18 P<0.05 1 и 2: t=4.62 P<0.05 2 и 3: t=6.56 P<0.05	1 и 3: t=19.56 P<0.05 1 и 2: t=16.15 P<0.05 2 и 3: t=3.40 P<0.05

последующего мониторинга их размера в процессе лечения (Рисунок 2 Б).

Лечение ожоговых ран начинали через 5 суток после нанесения травмы. У крысы донора производили отбор крови, которую смешивали с антикоагулянтом цитратом натрия. Цитратную кровь центрифугировали на центрифуге ОПН-3 две минуты при скорости 300 об/мин и сразу 10 минут при скорости 1000 об/мин. Опытным животным плазму вводили один раз в 5 - 7 дней вокруг и под патологический очаг в объеме 0,1 мл. (опытной группе № 1 - бесклеточную плазму; опытной группе № 2 - плазму, обогащенную тромбоцитами). Контрольным животным лечение не проводилось.

Мониторинг и оценку заживления ран осуществляли путем измерения их площади, используя программное обеспечение для планиметрических исследований

IpSquare v5.0 for Windows from LProSoft. Фото фиксацию и фото документирование осуществляли на момент нанесения ожоговой раны и далее на пятый день после травмы (первое введение образцов плазмы), на 14 день после травмы, на 23 день после травмы и на 30 день после травмы. По окончании эксперимента все фотографии загружались в программу для планиметрических исследований. Программа настраивалась по графическому объекту с известной площадью. Далее у каждого животного проводился расчет площади раневых дефектов зафиксированных в динамике на протяжении всего периода исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты проведенного эксперимента показали, что и бесклеточная и тромбоцитарная образцы плазмы при ее введении вокруг и под раневой дефект ускоря-

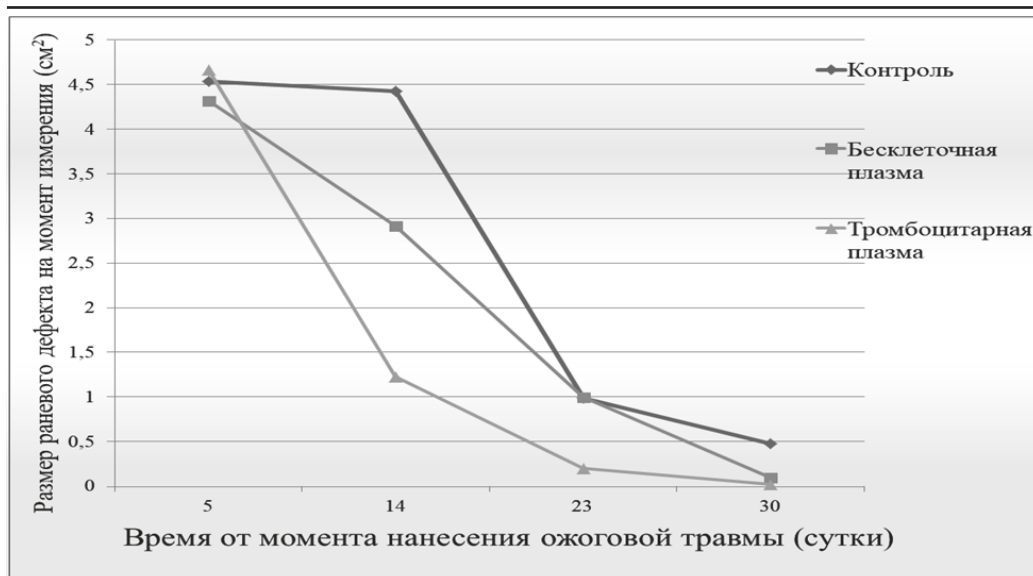


Рис. 4. Графическое отображение динамики заживления ожоговой раны при лечении бесклеточной и тромбоцитарной плазмой. Пояснение в тексте

ют образование рубца и эпителизацию в сравнении с не леченым контролем (Рисунок 3 (А,Б,В,Г)). Однако в случае применения тромбоцитарной плазмы (Рисунок 3 (И,К,Л,М), в сравнении с бесклеточной плазмой (Рисунок 3 (Д,Е,Ж,З)), более быстро происходит контракция краев раневого дефекта и реорганизация рубца (Таблица 1).

На 30 сутки с момента нанесения ожога у животных, которым в качестве лечения применяли инъекции плазмы обогащенной тромбоцитами, контракция краев раны происходила полностью, а рубец имел минимальные размеры (Таблица 1). Раневой дефект у тех животных, которым в качестве лечения применяли инъекции бесклеточной плазмы, к 30 дню не закрылся полностью, но был значительно ([≈] в 5 раз) меньше, чем у животных контрольной группы. В то же время площадь рубца у этой опытной группы хоть и была достоверно меньше по сравнению с площадью рубца в группе контроля, но оставалась значительной (Таблица 1).

Графическое представление динамики

раневого процесса в сравниваемых группах показывает, что резкая активная контракция краев раневого дефекта наблюдается только у тех животных которым в качестве лечения использовали введение плазмы обогащенной тромбоцитами (Рисунок 3 (И,К,Л,М)). В контрольной группе активный процесс сокращения площади раневого дефекта начинался только с 14 дня. До 14 дня раневой дефект хоть и сокращался в размерах, но происходило это медленно (Рисунок 3 (А,Б,В,Г)). В группе животных которым в качестве лечения использовали введение бесклеточной плазмы (Рисунок 3 (Д,Е,Ж,З)) скорость контракции краев раневого дефекта занимала среднее положение в сравнении с контролем и группой которую лечили введением плазмы обогащенной тромбоцитами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты макро морфологического мониторинга лечения ожоговой раны представляют отчетливые визуально однозначные интерпретируемые данные о том, что инъекции плазмы обогащенной

тромбоцитами дают более высокий заживляющий эффект, чем бесклеточная плазма (Рисунок 3 (М,З)).

Дополнительное количественное графическое представление динамики раневого процесса в сравниваемых группах показывает, что резкая активная контракция краев раневого дефекта наблюдается только у тех животных, которым в качестве лечения использовали введение плазмы обогащенной тромбоцитами (Рисунок 4). Что согласуется с современными представлениями о том, что плазма обогащённая тромбоцитами является источником факторов роста, которые после их введения в зону тканевого дефицита моментально индуцируют процессы пролиферации. В контрольной группе активный процесс сокращения площади раневого дефекта начинался только с 14 дня. До 14 дня раневой дефект хоть и сокращался в размерах, но происходило это медленно с задержкой на прохождение стадий альтерации, экссудации и накопление факторов роста и дифференцировки (Рисунок 3 (И,К)). В группе животных которым в качестве лечения использовали введение бесклеточной плазмы скорость контракции краев раневого дефекта занимала промежуточное положение в сравнении с контролем и группой которую лечили введением плазмы обогащенной тромбоцитами (Рисунок 3 (З,Г,М)). По всей видимости, ускорение процесса заживления, индуцированное бесклеточной плазмой, обусловлено наличием в ней некоторого количества биологически активных веществ обладающих противовоспалительными и антибактериальными свойствами, а так же свойствами факторов роста.

ВЫВОДЫ

Таким образом, можно сделать вывод, что для лечения ожоговых ран можно использовать как бесклеточные, так и тромбоцитарные образцы аутологичной плазмы. Однако следует отметить, что большей эффективностью в отношении ускорения контракции краев раны и эпителизации обладает тромбоцитарная плазма.

EFFECT OF CELL-FREE AND PLATELET PLASMA ON BURN WOUND HEALING IN RATS

M.V. Sverdlova, postgraduate student of the department of General and Private Surgery; A.A. Stekolnikov, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of General and Private Surgery; A.O. Minina, Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of General and Private Surgery; A.V. Bokarev, Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General and Private Surgery; Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine".

ABSTRACT

The presented study analyzes the healing effect of pure cell-free plasma and platelet-rich plasma. The study was conducted on Wistar rats. Three groups of rats were formed for the experiment: a control group and two experimental ones (No. 1, No. 2). Burn wounds were inflicted on animals under sevoflurane anesthesia in the interscapular region with a copper-plated disc with a diameter of 20.0 mm heated in the flame of a gas burner to a temperature of 300.0 OC by applying it for 2.0 - 3.0 seconds. In the control group, treatment of burn wounds was not carried out, but surface application of aerosol 10% lidocaine was used to reduce the pain syndrome. For rats of experimental groups No. 1 and No. 2, treatment of burn wounds with plasma was started on the 5th day after injury. Rats of experimental group No. 1 were treated by injecting cell-free plasma under and around the burn. Rats of experimental group No. 2 were treated by injecting platelet-rich plasma under and around the burn. Monitoring and evaluation of wound healing was carried out by measuring their area. Photo fixation and photo documentation were carried out at the time of the burn wound and then on the fifth day after the injury (the first injection of plasma samples), on the 14th day after the injury, on the 23rd day after the injury and on the 30th day after the injury. The result of the study showed that both cell-free plasma and platelet-rich plasma accelerate the healing of a burn wound in comparison with the control. But platelet plasma, in comparison with cell-

free plasma, has a stronger therapeutic effect, significantly accelerating the contraction of the wound edges in the very first days after administration.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Алексеев, А.А. Регенеративная медицина в комбустиологии: состояние, проблемы и перспективы / А. А. Алексеев, А. Э. Бобровников. - Текст : электронный // Комбустиология : электронный журнал. - Москва. -2013. - URL: http://combustiolog.ru/number_journal/nomer-49-50-2013/ (дата обращения 21.03.2022).

2.Ахмеров, Р.Р. Регенеративная медицина на основе аутологичной плазмы. Технология Plasmolifting ТМ. / Р. Р. Ахмеров. - Москва: Литтерра, 2014. - 203 с. - Текст : непосредственный.

3.Бокарев, А.В. Моделирование раневого процесса на лабораторных крысах / А.В. Бокарев, М.В. Свердлова. - Текст : непосредственный // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ (Санкт-Петербург, 25-29 января 2021 г.) / [ответственный редактор А.А. Стекольников]. - Санкт-Петербург: СПбГУВМ, 2021. - С. 8-9.

4.Применение тромбоцитарной аутоплазмы при болезнях кожи мелких домашних животных: учебное пособие / Б.С. Семенов, Е.В. Рыбин, В.А. Гусева, Т.Ш. Кузнецова. - Санкт-Петербург: Лань, 2018. - 48 с. - (Учебники для вузов. Специальная литература). - Текст : непосредственный.

5.Реакция кожного покрова крыс на введение аутологичной бесклеточной плазмы крови или плазмы содержащей тромбоциты и другие лейкоциты / М.В. Свердлова, А.В. Бокарев, А.А. Стекольников, А.О. Минина. - Текст : непосредственный // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. -2021. - № 3. - С. 92-93.

6.Семенов, Б.С. Лечение кожных экспериментальных ран с применением тромбоцитарной аутоплазмы / Б.С. Семенов, Т.Ш. Кузнецова, В.А. Гусева. - Текст : непосредственный // Международный вестник ветеринарии. - 2014. - №3. - С. 19-23.

7.Alves, R. A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification / R. Alves, R. Grimalt. - Text : electronic // Skin appendage disorders. - 2018. - № 4(1). - P. 18-24. - URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29457008/> (дата обращения 24.04.2022).

8.Evaluation of subcutaneous infiltration of autologous platelet-rich plasma on skin-wound healing in dogs / H.A. Farghai, N.A. AbdElKader, M.S. Khattab, H.O. AbuBakr. - Text : electronic // Bioscience reports. - 2017. - № 37(2). - P. BSR20160503. - URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28246352/> (дата обращения 06.04.2022).

9.Monteiro, S.O. Effects of platelet-rich plasma on the repair of wounds on the distal aspect of forelimb in horses / S.O. Monteiro, O.M. Lepage, C. Theoret. - Text : electronic // American Journal of Veterinary Research. - 2009. - Vol. 70, № 2. - P. 277-82. - URL : https://www.researchgate.net/publication/24029784_Effects_of_platelet-rich_plasma_on_the_repair_of_wounds_on_the_distal_aspect_of_forelimb_in_horses (дата обращения 05.04.2022).

10.Reduced platelet concentration does not harm PRP effectiveness for ACL repair in a porcine in vivo model / A.N. Mastrangelo, P. Vavken, B.C. Fleming [et al.]. - Text : electronic // Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society. - 2011. - Vol. 29, № 7. - P. 1002-1007. - URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jor.21375> (дата обращения 06.04.2022).



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



NARISHIGE

Инвертированные микроскопы Nikon в сочетании с микроманипуляторами Narishige и системами подогрева позволяют проводить любые микрохирургические операции с клетками просто, быстро и удобно.



Рабочие станции ЭКО с ламинарным потоком обеспечивают защиту биологических образцов при работе и снижают риск микробной контаминации. В бокс встраивается стереомикроскоп. Столешница с подогреваемой поверхностью оборудована осветителем.



Официальный дистрибьютор
ООО «БМТ»
+7 (495) 504 15 52
info@bmtltd.ru



Редакция журнала
«Международный вестник ветеринарии»
196084, Санкт-Петербург, Черниговская 5,
СПбГУВМ.
Телефон/факс (812) 387-11-58
Mail to: farm_vestnik@mail.ru